

# **Diversität wertgebender Inhaltsstoffe bei *Daucus carota* L.**

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften  
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina  
zu Braunschweig  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
(Dr. rer. nat.)  
genehmigte  
D i s s e r t a t i o n

von Jonathan Florentin Schulz-Witte  
aus Hamburg

1.Referent:  
2.Referent:  
eingereicht am:  
mündliche Prüfung (Disputation) am:

Prof. Dr. Peter Winterhalter  
Prof. Dr. Ulrich Engelhardt  
17.11.2010  
02.02.2011

Druckjahr 2011

## **Vorveröffentlichungen der Dissertation**

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch den Mentor der Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

### **Publikationen**

J. Schulz-Witte, T. Nothnagel, H. Schulz:

„Comparison of different clean-up methods for simultaneous HPLC determination of carotenoids and polyacetylenes in carrot roots.“ Journal of Applied Botany and Food Quality-Angewandte Botanik, 83 (2), 123-127, 2010

T. Nothnagel, D. Ulrich, J. Schulz-Witte, H. Schulz:

„Evaluierung genetischer Ressourcen der Möhre (*Daucus carota* L.) als Quelle gesundheitsfördernder Inhaltsstoffe.“ Monatsschrift, Magazin für den Gartenbau-Profi, Sonderheft Möhre 2009

### **Tagungsbeiträge**

J. Schulz-Witte, T. Nothnagel, H. Schulz:

„Diversity of carrot root non-volatile metabolites in gene bank accessions“  
2nd Polish-German bilaterale conference, 24.06 - 25.06.2009, Krakow, Poland  
(veröffentlicht in Tagungsband Seite 17)

J. Schulz-Witte, D. Ulrich, T. Nothnagel, H. Schulz:

„Evaluierung genetischer Ressourcen von *Daucus carota* L. als Quelle gesundheitsfördernder Inhaltsstoffe“ 2. Nachwuchswissenschaftler–Forum des Julius Kühn–Instituts, 17.11. - 19.11.2009, Berlin-Dahlem

J. Schulz-Witte, D. Ulrich, T. Nothnagel, H. Schulz:

„Gesundheitsfördernde Inhaltsstoffe in Möhren - Erste Ergebnisse eines internationalen Forschungsprojektes“ Standortkolloquium am Julius Kühn-Institut in Quedlinburg, 08.10. 2009

J. Schulz-Witte, D. Ulrich, T. Nothnagel, H. Schulz:

„Gesundheitsfördernde Inhaltsstoffe von Möhren“ Möhrentag Sachsen-Anhalt, 20.07.2010, JKI-Quedlinburg

### **Poster**

J. Schulz-Witte, H. Schulz, D. R. Kammerer, R. Carle, T. Nothnagel:

„Routine analysis of carotenoids and polyacetylenes in carrots using accelerated solvent extraction (ASE)“, Anakon 2009, 17.03. – 20.03.2009 in Berlin

J. Schulz-Witte, D. Ulrich, T. Nothnagel, H. Schulz:

„Diversity of volatile and non-volatile compounds in a gene bank collection of cultivated *Daucus carota* L.“, 45. DGQ-Tagung, 22. und 23.03.2009 Berlin-Dahlem und 34th International Carrot Conference 26.07. – 28.07.2010, Kennewick, Washington, USA

„Nur wer sein Ziel kennt, findet den Weg“.

Laotse



## **Meiner Familie**

## Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 2008 bis März 2011 unter der Leitung von Herrn Direktor und Professor Dr. Hartwig Schulz am Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz des Julius Kühn-Institutes in Quedlinburg im Rahmen eines bilateralen DFG-/MNiSW-Forschungsprojektes durchgeführt. Dr. Schulz danke ich für die Betreuung dieser Arbeit, ein stets offenes Ohr sowie für die vielen Gespräche und Diskussionen.

Herrn Prof. Dr. Peter Winterhalter, Geschäftsführender Leiter des Institutes für Lebensmittelchemie der Fakultät für Lebenswissenschaften an der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig, danke ich für die Übernahme der Erstkorrektur, Herrn Prof. Dr. Ulrich Engelhardt danke ich für die Übernahme der Korreferats.

Den Projektpartnern des DFG-/MNiSW-Projektes, speziell Herrn Dr. Thomas Nothnagel, Herrn Dr. Detlef Ulrich, Herrn Prof. Dr. habil. Dr. h.c. Reinhold Carle, Herrn Dr. Dietmar Kammerer, Frau Dipl.-Troph. Maike Kramer und Herrn Dr. habil. Rafal Baranski, danke ich für die gute und konstruktive Zusammenarbeit während des gesamten Projektes.

Herrn Dr. Detlef Ulrich danke ich für die angenehme Arbeitsatmosphäre und die Bereitstellung der Daten der flüchtigen Aromakomponenten in *Daucus carota* L.

Der deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) (Grant number: Schu 566/10-1) danke ich für die finanzielle Förderung des Projektes.

Allen Mitarbeitern des Julius Kühn-Institutes in Quedlinburg, ganz speziell Frau Annett Schmidt, danke ich für die gute Zusammenarbeit und die unkomplizierte Aufnahme in das Institut.

Besonderer Dank gilt meiner Familie, die mir während meiner gesamten Ausbildung stets den Rücken gestärkt und mich bei allen meinen Vorhaben unterstützt hat.

## Zusammenfassung

Karotten spielen weltweit für die menschliche Ernährung eine wesentliche Rolle. Sie sind deshalb Gegenstand vielfältiger Forschung. Die hier vorgelegte systematische Erfassung der wichtigsten wertgebenden Inhaltsstoffe in Kulturmöhren und Wildmöhren liefert daher einen Beitrag, den derzeitigen Stand der Forschung zusammenzufassen und eine Grundlage für neue Forschung, nicht zuletzt auf dem Gebiet der Züchtung, zu geben. Es wurden 100 Genotypen (Sorten) Kulturmöhren und 104 Genotypen Wildmöhren auf die Carotinoide  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin, Lycopin und Lutein sowie auf die Polyacetylene Falcarinol, Falcarindiol und Falcarindiol-3-Acetat untersucht und deren Konzentration pro 100 g Frischmasse (FM) bestimmt.

Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse wurde durch jeweils drei Wiederholungen der Bestimmung gesichert. Für die – wirtschaftlich sinnvolle - gleichzeitige Extraktion der Carotinoide und Polyacetylene aus den Karotten wurde ein neues Verfahren entwickelt. Durch beschleunigte Lösungsmittlextraktion (ASE) aus gefriergetrocknetem Karottenpulver wurden in einer ersten und einzigen Extraktion etwa 60 % bis 70 % der gesuchten Inhaltsstoffe aus der Probe gelöst. Damit ist das neu entwickelte Extraktionsverfahren gegenüber herkömmlichen Verfahren der Extraktion von Carotinoiden und Polyacetylenen aus Karotten um ein Mehrfaches schneller und effizienter.

In den untersuchten Wurzeln der Kulturmöhren wurden für  $\alpha$ -Carotin Gehalte von 0,00 bis 3,66 mg/100 g FM, für  $\beta$ -Carotin von 0,28 bis 45,24 mg/100 g FM und für Lutein von 0,00 bis 2,93 mg/100 g FM gemessen. In den meist weißen Wurzeln der untersuchten Wildmöhren fanden sich für  $\alpha$ -Carotin Gehalte von 0,00 bis 4,06 mg/100 g FM, für  $\beta$ -Carotin von 0,00 bis 69,96 mg/100 g FM, für Lycopin von 0,00 bis 0,54 mg/100 g FM und für Lutein von 0,00 bis 8,20 mg/100 g FM.

Polyacetylene konnten in signifikanter Konzentration insbesondere in Wildmöhren gemessen werden. Die Konzentrationen lagen in Wildmöhren für Falcarinol bei Werten von 0,42 bis 107,30 mg/100 g FM, für Falcarindiol bei Werten von 1,09 bis 465,22 mg/100 g FM und für Falcarindiol-3-Acetat bei Werten von 0,32 bis 39,96 mg/100 g FM. In Kulturmöhren betrug die Bandbreite der Konzentrationen für Falcarinol 0,08 bis 28,11 mg/100 g FM, für Falcarindiol 0,82 bis 42,40 mg/100 g FM und für Falcarindiol-3-Acetat 0,16 bis 14,93 mg/100 g FM.

Ein Zusammenhang zwischen hohen Polyacetylenkonzentrationen und hohen Zuckergehalten konnte in Kulturmöhren festgestellt werden. Dies lässt den Schluss zu, dass

ein durch hohe Polyacetylenkonzentrationen bedingter Bittergeschmack in Kulturmöhren in der Regel durch einen hohen Grad an Süße maskiert wird.

Die Gehalte an Carotinoiden und Polyacetylenen sind in Kulturmöhren im Wesentlichen sortenspezifisch und kaum von äußeren Bedingungen abhängig. Diese Schlussfolgerung ergibt sich aus der großen Variationsbreite der Gehalte an Carotinoiden und Polyacetylenen der unter gleichen äußeren Bedingungen kultivierten 100 Sorten Kulturmöhren. Bestätigt wird die Aussage durch den Vergleich mit den Ergebnissen der gleichzeitigen Feldversuche an 10 Kulturmöhrensorten an den zwei Standorten Krakow (Polen) und Quedlinburg (Deutschland) über zwei Jahre. Von entscheidendem Gewicht ist danach der spezifische genetische Einfluss des jeweiligen Genotyps auf die Bildung nicht-flüchtiger Inhaltsstoffe. Auch die unterschiedlichen Reaktionen der verschiedenen Genotypen auf die konkreten Standortbedingungen sind maßgeblich genetisch determiniert.

Die gleichzeitige Untersuchung von Blattmaterial und Wurzeln der 100 untersuchten Kulturmöhrensorten bestätigt die Vermutung, dass die Synthese der untersuchten Carotinoide und Polyacetylene in den Blättern und Wurzeln der Pflanzen auf unterschiedlichen Wegen erfolgt.

Eine Korrelation zwischen den flüchtigen Inhaltsstoffen des Blattwerks der untersuchten Kulturmöhren und den untersuchten nicht-flüchtigen Inhaltsstoffen der Wurzeln besteht nicht. Ein Schnelltest des Blattwerks für Vorernteuntersuchungen von Karottenwurzeln kann daher nicht entwickelt werden.

Ontogeneseversuche an je zwei Genotypen Wild- und Kulturmöhren bestätigten den maßgeblichen Einfluss der genetischen Disposition auf Zeitpunkt und Ausmaß der Bildung von Carotinoiden und Polyacetylenen. Bei Kulturmöhren zeigte Kältestress demgegenüber keine signifikanten Auswirkungen auf den Gehalt der untersuchten Carotinoide und Polyacetylene.

## Summary

Carrots play an important role in the human nutrition all over the world. Therefore, they have been in the focus of a varied research for a long time. The data which are presented in this study provide a comprehensive overview of the present research on carrots, new aspects of the genetic diversity of carrots and a good basis for further research projects on carrots.

The content of the non-volatile compounds in carrot including carotenoids, polyacetylenes and sugars were screened in 100 genotypes of cultivated carrots and 104 genotypes of wild carrots. Carotenoids included  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene as well as lutein and lycopene. As key compounds of the polyacetylenegroup **falcarinol (FaOH)**, **falcarindiol (FaDOH)** and **falcarindiol-3-acetate (FaDOH-3-acetate)** were detected. All contents were calculated in milligram per 100 gram fresh weight (fw).

For a better reproducibility and subsequent statistical computations of the datasets each genotype was cultivated three times and analysed twice by HPLC. For simultaneous extraction of the non-volatile carotenoids and polyacetylenes a new accelerated extraction method was developed. Using accelerated solvent extraction (ASE), 60 % to 70 % of carotenoids and polyacetylenes could be simultaneously extracted from lyophilised carrot powder during the first extraction. For this reason this newly developed extraction process linked with a fast HPLC-DAD and HPLC-MS analysis is faster and more efficient than the established methods.

In the cultivated carrot genotypes  $\alpha$ -carotene contents between 0.00 a 3.66 mg/100 g fw,  $\beta$ -carotene contents between 0.28 and 45.24 mg/100 g fw and lutein contents between 0.00 and 2.93 mg/100 g fw could be detected.

The carotenoid contents of the mostly white coloured wild carrot genotypes vary for  $\alpha$ -carotene between 0.00 and 4.06 mg/100 g fw, for  $\beta$ -carotene between 0.00 and 69.96 mg/100 g fw, for lutein between 0.00 and 8.20 mg/100 g fw and for lycopene between 0.00 and 0.54 mg/100 g fw.

Significant polyacetylene contents were detected not only in wild carrot genotypes but also in the cultivated carrots. The polyacetylene contents in wild carrot genotypes **for FaOH spread from 0.42 to 107.30, for FaDOH from 1.09 to 465.22 and for FaDOH-3-acetate from 0.32 to 39.96**. In cultivated carrots the FaOH contents varied between 0.08 and 28.11 while the contents for FaDOH varied between 0.82 and 42.40 and for FaDOH-3-acetate between 0.16 and 14.93.

A positive correlation between polyacetylenes and sucrose contents in cultivated carrots could be detected. This effect leads to the conclusion that the bitter taste in cultivated carrots is mostly masked by high sugar contents and the sweet taste.

The carotenoid and polyacetylene contents in cultivated carrots are mostly influenced by the genetic background of the plant; environmental factors have only minor influence. This conclusion is based on the wide-spread carotenoid and polyacetylene contents detected in 100 genotypes of cultivated carrots which were cultivated under uniform conditions. These results correspond to those from a biennial field trial conducted in Quedlinburg (Germany) and Krakow (Poland) in which 10 genotypes of cultivated carrots were analysed for their non-volatile compounds. In this study it was found that the genetic background has the main influence on the contents of the non-volatile compounds in the carrots in contrast to the influence of the growing place. A simultaneous detection of the non-volatile compounds in the carrot leaves and roots leads to the conclusion that there are separate biosynthesis pathways for carotenoids and polyacetylenes in carrot roots and leaves.

An analysis of the volatile and non-volatile compounds in the roots of 100 cultivated carrot genotypes showed that there is no correlation between volatile and non-volatile compounds in the carrot root. Therefore, a rapid test for early selection of carrot roots is not possible.

Ontogenesis studies realised on two cultivated and two wild carrot genotypes confirmed the thesis that the content of carotenoids and polyacetylenes is mainly genetically controlled. An influence of cold stress on the contents of non-volatile compounds in cultivated carrots has not been found.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	X
Abbildungsverzeichnis.....	XIV
Tabellenverzeichnis.....	XXVIII
Formelverzeichnis .....	XXXII
1 Einleitung .....	1
1.1 Thematische Einleitung.....	2
1.1.1 Wirtschaftliche Bedeutung und Konsumgewohnheiten von <i>Daucus carota</i> L.....	2
1.1.2 Gesundheitsfördernde Inhaltsstoffe in der Karotte .....	6
1.2 Zielstellung.....	7
1.3 Allgemeine Grundlagen.....	9
1.3.1 <i>Daucus carota</i> L. (Botanik und Morphologie) .....	9
1.3.2 Inhaltsstoffe von <i>Daucus carota</i> L.....	11
2 Stand der Forschung .....	12
2.1 Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe.....	12
2.2 Carotinoide .....	14
2.2.1 Carotinoide – Vorkommen und Chemie.....	14
2.2.2 Biochemie und Biosynthese der Carotinoide .....	19
2.2.3 Bedeutung der Carotinoide.....	25
2.2.4 Konzentrationen der Carotinoide in der Karotte .....	25
2.2.5 Carotinoidverteilung innerhalb der Karotte.....	26
2.2.6 Einflussfaktoren auf den Carotinoidgehalt in Karotten .....	26

---

2.2.6.1 Sorte .....	26
2.2.6.2 Reife .....	27
2.2.6.3 Standort .....	27
2.2.6.4 Düngung .....	28
2.2.6.5 Schädlingsbefall/Schädlingsbekämpfung .....	29
2.2.7 Probenaufarbeitungs- und Carotinoidanalysemethoden .....	29
2.2.8 Carotinoid-Analytik .....	30
2.2.9 Aufarbeitungs- und Analysetechniken innerhalb des Instituts für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz – Quedlinburg (ÖPV-Q).....	31
2.2.10 Nachweismethode der Carotinoide nach LFGB .....	32
2.3 Polyacetylene .....	32
2.3.1 Chemische Struktur, gesundheitsfördernde Wirkung und Geschmack .....	32
2.3.2 Biosynthese der Polyacetylene des Falcarinol-Typs .....	35
2.3.2.1 Falcarinol .....	39
2.3.2.2 Falcarindiol .....	40
2.3.2.3 Falcarindiol-3-Acetat .....	41
2.3.4 Polyacetylene in der Karotte.....	41
2.3.5 Extraktionsmethoden von Polyacetylenen aus Karotten .....	43
2.3.6 Trennmethoden für den Nachweis von Polyacetylenen .....	44
2.3.7 Nachweis von Polyacetylenen mittels LC-MS .....	45
2.3.8 Nachweis von Polyacetylenen mittels GC.....	46
2.3.9 Nachweis von Polyacetylenen mit Hilfe der Raman-Spektroskopie .....	46



---

2.3.10 Probenaufarbeitungs- und Nachweismethoden von Polyacetylenen innerhalb des Instituts für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz Quedlinburg (ÖPV-Q) .....	47
2.3.11 Nachweis der Polyacetylene nach den Vorschriften des LFGB .....	48
2.4 Zucker in Karotten.....	48
2.4.1 Monosaccharide .....	48
2.4.2 Disaccharide.....	49
2.4.3 Allgemeine Nachweismethoden für Monosaccharide.....	49
2.4.4 Nachweismethode des Saccharosegehalts in Frucht- und Gemüsesäften nach LFGB .....	50
2.4.5 Nachweismethode für D-Glucose und D-Fructose in Frucht- und Gemüsesäften nach LFGB.....	51
2.5 Flüchtige Inhaltsstoffe .....	52
2.5.1 Flüchtige Inhaltsstoffe in <i>Daucus carota</i> L. ....	54
2.5.2 Biosynthesewege der Terpene .....	55
2.5.2.1 Der Acetat-/Mevalonat-Weg (MVA-Weg).....	61
2.5.2.2 Der DOXP/MEP-Weg.....	62
2.5.3 Mono- und Sesquiterpene .....	64
2.5.3.1 Monoterpene.....	64
2.5.3.2 Sesquiterpene.....	64
2.5.4 Terpenmuster in Karotten .....	65
2.5.5 Methoden der Bestimmung der Terpene in Karotten .....	70
2.5.6 Aufarbeitungs-, Extraktions- und Analysemethoden im ÖPV-Q .....	71

---

2.5.7 Nachweismethode der flüchtigen Inhaltsstoffe nach LFGB.....	71
3 Material und Methoden.....	72
3.1 Probenmaterial - Anbau, Kultivierung und Ernte .....	72
3.1.1 Karottenmaterial für die Assoziationsstudie .....	72
3.1.2 Assoziationsversuche I und II .....	73
3.1.3 Karottenmaterial für die zweiortigen, zweijährigen Feldversuche (Krakow- Quedlinburg) .....	73
3.1.4 Karottenmaterial für die Ontogenesestudie.....	75
3.1.4.1 Ontogeneseversuch I (Kulturmöhren) .....	77
3.1.4.2 Ontogeneseversuch II (Wildmöhren) .....	78
3.2 Chemikalien, Referenzsubstanzen und Verbrauchsmaterialien.....	80
3.2.1 Chemikalien .....	80
3.2.2 Referenzsubstanzen und HPLC-Säulen .....	80
3.2.2.1 Carotinoide .....	80
3.2.2.2 Polyacetylene.....	82
3.2.2.3 Zucker.....	84
3.2.2.4 Flüchtige Inhaltsstoffe .....	86
3.2.3 Verbrauchsmaterialien.....	86
3.3 Geräte.....	86
3.4 Methoden.....	87
3.4.1 Probenvorbereitung der Karottenproben im Labor.....	87
3.4.2 Trockenmassebestimmung.....	88

---

3.4.3 Probenaufarbeitung der Möhren mittels beschleunigter Lösungsmittlextraktion (ASE) .....	89
3.4.4 Beschleunigte Probenaufarbeitung mittels Rotations-Vakuum-Konzentrator .....	98
3.4.5 Probenaufarbeitung für die Analytik von Zuckern .....	100
3.4.6 Probenaufarbeitung für die Analytik von flüchtigen Inhaltsstoffen .....	100
3.4.7 Identifizierung und Quantifizierung von Carotinoiden in Karotten mittels HPLC-DAD .....	100
3.4.8 Identifizierung und Quantifizierung der Polyacetylene mittels HPLC-MS .....	102
3.4.9 Identifizierung und Quantifizierung von Zuckern mittels HPLC-RI .....	105
3.4.10 Analytik der flüchtigen Inhaltsstoffe mittels HS-SPME-GC innerhalb des JKI-ÖPV .....	106
3.4.11 Methoden der statistischen Verrechnung .....	107
4 Ergebnisse .....	108
4.1 Ergebnisse der Methodenentwicklung .....	108
4.1.1 Ergebnisse des Gefrierlagerungsversuchs .....	108
4.1.2 Ermittlung der tatsächlichen Extraktionsausbeute der ASE bei Carotinoiden und Polyacetylenen .....	109
4.2 Ergebnisse des ersten Assoziationsversuchs mit 100 Kulturmöhrengenotypen .....	112
4.2.1 Verteilung der Carotinoide in 100 Kulturmöhrengenotypen .....	113
4.2.2 Verteilung der Polyacetylene in 100 Genotypen Kulturmöhren .....	118
4.2.3 Verrechnung der Carotinoid- und Polyacetylgehalte innerhalb des ersten Assoziationsversuchs .....	122
4.2.4 Korrelation zwischen flüchtigen Inhaltsstoffen in Karottenblättern und nicht-flüchtigen Inhaltsstoffen in den Karottenwurzeln bei 100 Kulturmöhrengenotypen .....	124

---

4.2.5 Verteilung der Zucker in 99 Kulturmöhrengenotypen .....	124
4.2.6 Überprüfung der Analysenergebnisse durch die Ergebnisse der statistischen Verrechnung .....	127
4.2.7 Ranking der höchsten Carotinoid-, Polyacetylen- und Zuckerkonzentrationen in den Kulturmöhren .....	128
4.3 Ergebnisse des zweiten Assoziationsversuchs .....	129
4.3.1 Verteilung der Carotinoide in 104 Wildmöhrengenotypen .....	130
4.3.2 Polyacetylenverteilung in 104 Wildmöhrengenotypen .....	134
4.3.3 Verrechnung der Carotinoiddaten mit Polyacetylen Daten .....	139
4.3.4 Validierung der Analyseergebnisse anhand von statistischen Methoden .....	141
4.3.5 Verteilung der Polyacetylenkonzentrationen in Wild- und Kulturmöhren .....	141
4.4 Ergebnisse der zweijährigen, zweiortigen Feldversuche Krakow-Quedlinburg .....	145
4.4.1 Carotinoidkonzentrationen in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow und Quedlinburg .....	145
4.4.2 Polyacetylenkonzentrationen in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow und Quedlinburg .....	147
4.4.3 Zuckerkonzentrationen in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow und Quedlinburg .....	149
4.4.4 Bestimmung der Einflussfaktoren Standort und Jahr auf die nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe in der Karotte .....	150
4.5 Ontogeneseversuche I und II .....	151
4.5.1 Ontogenese von Kulturmöhren am Beispiel der Sorten 'Nevis' und 'Rotin' .....	151
4.5.1.1 Bildungszeitpunkte von Carotinoiden in den Sorten 'Nevis' und 'Rotin' während des Wachstumsprozesses .....	152

---

4.5.1.2 Bildungszeitpunkte von Polyacetylenen in den Sorten 'Nevis' und 'Rotin' während des Wachstumsprozesses .....	154
4.5.1.3 Bildungszeitpunkte von Zuckern in den Sorten 'Nevis' und 'Rotin' während des Wachstumsprozesses .....	156
4.5.1.4 Bildungszeitpunkte von Carotinoiden, Polyacetylenen und Zuckern in Karottenwurzel und Blatt bei 'Nevis' und 'Rotin' .....	157
4.5.2 Ontogenese von Wildmöhren am Beispiel der Genotypen DAL 377/00-10 und GRCGGB 11057 .....	158
4.5.2.1 Bildungszeitpunkte von Carotinoiden in den Genotypen DAL 377/00-10 und GRCGGB 11057 während des Wachstumsprozesses .....	159
4.5.2.2 Bildungszeitpunkte von Polyacetylenen in den Genotypen DAL 377/00-10 und GRCGGB 11057 während des Wachstumsprozesses .....	161
5 Diskussion .....	163
5.1 Methodenentwicklung .....	163
5.1.1 Aufkonzentration der Proben durch den Rotations-Vakuum-Konzentrator .....	167
5.1.2 HPLC-Methoden zum Nachweis von Carotinoiden und Polyacetylenen .....	168
5.1.3 Validierung der entwickelten ASE-Methode .....	168
5.1.4 Tiefkühlagerung .....	169
5.1.5 Restfeuchtegehalt des gefriergetrockneten Karottenpulvers .....	170
5.2 Erster und zweiter Assoziationsversuch .....	171
5.2.1 Erster Assoziationsversuch .....	171
5.2.1.1 Verteilungsmuster der Carotinoidkonzentrationen in 100 Kulturmöhrengenotypen .....	171
5.2.1.2 Verteilungsmuster der Polyacetylenkonzentrationen in 100 Genotypen Kulturmöhren .....	173

---

5.2.1.3 Verrechnung der Carotinoid- und Polyacetyleneergebnisse in 100 Kulturmöhrengenotypen.....	176
5.2.1.4 Verteilungsmuster der flüchtigen Inhaltsstoffe in 100 Kulturmöhrengenotypen .....	176
5.2.1.5 Verteilungsmuster der Zucker in 99 Genotypen Kulturmöhren .....	177
5.2.1.6 Validierung der erhobenen Ergebnisse mittels statistischer Methoden.....	177
5.2.1.7 Ausblick .....	178
5.2.2 Zweiter Assoziationsversuch .....	179
5.2.2.1 Verteilungsmuster der Carotinoidkonzentrationen in 104 Wildmöhrengenotypen .....	179
5.2.2.2 Verteilungsmuster der Polyacetylenkonzentrationen in 104 Wildmöhrengenotypen .....	180
5.2.2.3 Verrechnung der Konzentrationen von Carotinoiden und Polyacetylenen in 104 Genotypen Wildmöhren.....	181
5.2.2.4 Validierung der erhobenen Ergebnisse .....	182
5.2.2.5 Ausblick .....	182
5.3 Feldstudien 2008 und 2009.....	183
5.3.1 Carotinoidgehalte in den Feldstudien 2008/2009.....	183
5.3.2 Polyacetylgehalte in den Feldstudien 2008/2009.....	184
5.3.3 Zuckergehalte in den Feldstudien 2008/2009 .....	186
5.3.4 Einfluss des Standortes auf die nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe in Karotten.....	186
5.3.5 Einfluss der Standorte Krakow/Quedlinburg auf die Konzentration nicht-flüchtiger Inhaltsstoffe.....	187
5.4 Ontogeneseversuche.....	187

---

5.4.1 Zeitpunkte der Carotinoidsynthese in den Sorten 'Nevis' und 'Rotin' .....	188
5.4.2 Synthesezeitpunkte der Polyacetylene in den Sorten 'Nevis' und 'Rotin' .....	190
5.4.3 Zuckersynthesezeitpunkte in den Sorten 'Nevis' und 'Rotin' .....	192
5.4.4 Korrelation zwischen Inhaltsstoffen in Blatt und Wurzel in den Sorten 'Nevis' und 'Rotin' .....	194
5.4.5 Synthesezeitpunkte der Carotinoide in den Genotypen DAL 377/00-10 und GRCGGB 11057 .....	195
5.4.6 Synthesezeitpunkte der Polyacetylene in den Genotypen DAL 377/00-10 und GRCGGB 11057 .....	196
6 Literaturverzeichnis .....	198
7 Anhang.....	215

Abkürzungsverzeichnis

ACN	Acetonitril (CH <sub>3</sub> CN)
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization Chemische Ionisation bei Atmosphärendruck
ASE	Accelerated Solvent Extraction beschleunigte Lösungsmittlextraktion
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
a <sub>w</sub> -Wert	Activity of Water Wasseraktivität
BBCH-Codes	Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie
BF	β-Fructosidase
c	Konzentration
CDP-ME	4-(Cytidin 5'-diphospho)-2-C-methylerythriol
CTP	Cytidintriphosphat
DAD	Diode-Array-Detector Diodenarray-Detektor
DC	Dünnschicht-Chromatographie
dt	Dezitonne
DOXP	1-Desoxy-D-Xylulose-5-Phosphat
EIC	Extracted Ion Chromatogram
FaDOH	Falcarindiol ((3R,8S)-[Z]-Heptadeca-1,9-dien-4,6-diin-3,8- diol)
FaDOH-3-Acetat	Falcarindiol-3-Acetat ([Z]-3-Acetoxy-heptadeca-1,9-dien-4,6-diin-8-ol)



---

FaOH	Falcarinol ((3R)-[Z]-Heptadeca-1,9-dien-4,6-diin-3-ol)
FID	Flame Ion Detector Flammenionisationsdetektor
FM	Frischmasse
Fruc	Fructose
G-6-P	Glucose-6-Phosphat
G-6-P-DH	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
GC	Gaschromatographie
Gluc	Glucose
ha	Hektar
HK	Hexokinase
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)
HS-SPME-GC	Head-Space Solid Phase Microextraction Gas Chromatography (Dampfraum-Festphasenmikroextraktions- Gaschromatographie)
ID	Innendurchmesser
JKI	Julius Kühn-Institut
JKI-Q	Julius Kühn-Institut in Quedlinburg
klx	Kilolux
LC	Liquid Chromatography (Flüssigkeitschromatographie)
LD	Letale Dosis
LMGB	Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz

---

LFGB	Lebensmittel- und Futtermittelgesetz
[M] <sup>+</sup>	Molekülion
mAU	milli Absorbance Unit
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
MeOH	Methanol (CH <sub>3</sub> OH)
MEP	2-C-Methyl-D-Erythritol-4-Phosphat
MS	Mass Spectrometry Massenspektroskopie
MTBE	Methyl-tert-Butylether
MW	Mittelwert
NADP	β-Nicotinamin-Adenin-Dinucleotidphosphat
NADPH	β-Nicotinamin-Adenin-Dinucleotidphosphat (reduzierte Form)
NMR	Nuclear Magnetic Resonance Kernspinresonanzspektroskopie
NPK	Stickstoff Phosphor Kalium
ÖPV-Q	Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz in Quedlinburg
PCA	Principal Component Analysis (Hauptkomponentenanalyse)
QLB	Quedlinburg
RI-Detektor	Brechungsindex-Detektor
RP-HPLC	Umkehrphasen-HPLC
s %	prozentuale Standardabweichung
SPE	Solid Phase Extraction; (Festphasenextraktion)

---

SPI	Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe
STABW	Standardabweichung
U/min	Umdrehungen pro Minute
UV	ultraviolett
v/v	volume per volume (Volumenprozent)

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1-1-1:	Anbau von Freilandgemüse in Deutschland im Jahr 2009 in ha nach Behr, 2010 [Behr, 2010]
Abb. 1-1-2:	Gemüseausfuhr aus Deutschland im Jahr 2008 in 1.000 t nach Behr, 2010 [Behr, 2010]
Abb. 1-1-3:	Meistgekauftes Gemüse in Deutschland im Jahr 2009 in kg nach Behr, 2010 [Behr, 2010]
Abb. 1-1-4:	Weltkarte der Anbauggebiete von <i>Daucus carota</i> L. nach carrotmuseum [carrotmuseum, 2010]
Abb. 1-3-1:	Morphologische Entwicklung der Möhre ( <i>Daucus carota</i> L.) nach Keller et al., 1999 [Keller et al., 1999]
Abb. 2-1-1:	Ableitung der sekundären Pflanzenstoffe aus dem Primärstoffwechsel nach Schopfer und Brennicke, 2006 [Schopfer und Brennicke, 2006]
Abb. 2-2-1:	Sieben mögliche Endgruppen der Carotinoide nach Breitmaier, 2004 [Breitmaier, 2004]
Abb. 2-2-2:	$\psi$ , $\psi$ -Caroten (Lycopin) nach Breitmaier, 2004 [Breitmaier, 2004]
Abb. 2-2-3:	(+)- $\beta$ , $\epsilon$ -Caroten ( $\alpha$ -Carotin) nach Breitmaier, 2004 [Breitmaier, 2004]
Abb. 2-2-4:	$\beta$ , $\beta$ -Caroten ( $\beta$ -Carotin) nach Breitmaier, 2004 [Breitmaier, 2004]
Abb. 2-2-5:	(+)-3 $\alpha$ ,3' $\alpha$ -Dihydroxy- $\beta$ , $\epsilon$ -Caroten (Lutein, Xanthophyll) nach Breitmaier, 2004 [Breitmaier, 2004]
Abb. 2-2-6:	Vereinfachte Darstellung der Carotinoidbiosynthese nach Lienau, 2003 [Lienau, 2003]

---

Abb. 2-2-7:	Vereinfachter Biosyntheseweg der Carotinoide A: Der Xanthophylle; B: Der Carotine nach Meyer, 2002 [Meyer, 2002]
Abb. 2-2-8:	Biosynthese der Carotinoide über den plastidären Methylerythriolphosphatweg (vereinfacht) nach Schopfer und Brennicke, 2006 [Schopfer und Brennicke, 2006]
Abb. 2-2-9:	Vereinfachtes Schema des Carotinoid-Biosyntheseweges mit den beteiligten Enzymen und Hauptprodukten nach Just et al., 2007 [Just et al., 2007]
Abb. 2-3-1:	Strukturformel von (3R)-[Z]-Heptadeca-1,9-dien-4,6-diin- 3-ol (Falcarinol)
Abb. 2-3-2:	Strukturformel von (3R,8S)-[Z]-Heptadeca-1,9-dien-4,6- diin-3,8-diol (Falcarindiol)
Abb. 2-3-3:	Strukturformel von [Z]-3-Acetoxy-heptadeca-1,9-dien-4,6- diin-8-ol (Falcarindiol-3-Acetat)
Abb. 2-3-4:	Möglicher Biosyntheseweg von aliphatischen C <sub>17</sub> - Polyacetylenen des Falcarinol-Typs nach Bohlmann, 1973 [Bohlmann et al., 1973]
Abb. 2-3-5:	Biosyntheseweg für Polyacetylene mit unterschiedlicher Kettenlänge, ausgehend von der Ölsäure nach Bohlmann, 1973 [Bohlmann, 1973]
Abb. 2-3-6:	Dargestellter Biosyntheseweg nach Cahoon et al., 2003 [Cahoon et al., 2003]
Abb. 2-5-1:	Verknüpfungsmöglichkeiten der Isoprengrundeinheiten über Kopf-Schwanz oder Kopf-Kopf nach Vostrowsky, 2010 [Vostrowsky, 2010]
Abb. 2-5-2:	Stammkohlenwasserstoffe der Terpene nach Breitmaier, 2004 [Breitmaier, 2004]
Abb. 2-5-3:	Monoterpene, identifiziert in Karotten nach Kreutzmann, 2007 [Kreutzmann, 2007]

---

Abb. 2-5-4:	Sesquiterpene, identifiziert in Karotten nach Kreutzmann, 2007 [Kreutzmann, 2007]
Abb. 2-5-5:	Acetat-Mevalonat-Weg nach Alpermann, 2006 [Alpermann, 2006] 1.) Acetyl-CoA 2.) Acetoacetyl-CoA 3.) 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) 4.) Mevalonsäure 5.) 5-Phosphomevalonsäure 6.) 5-Pyrophosphomevalonsäure 7.) 3-Phospho-5-Phosphomevalonsäure 8.) Isopentenylidiphosphat (IDP) 9.) Dimethylallyldiphosphat (DMADP)
Abb. 2-5-6:	DOXP/MEP-Synthese-Weg der IPP-Biosynthese in den Plastiden von Pflanzen nach Schmid, 2003 [Schmid, 2003]
Abb. 2-5-7:	Biosynthesewege von Terpenen aus Dimethylallylpyrophosphat (DMAPP) und Isopentenylidiphosphat (IPP) nach Dewick, 2002 [Dewick, 2002]
Abb. 2-5-8:	Lokalisation der Isoprenoidbiosynthese in den verschiedenen Teilen der pflanzlichen Zelle nach Aharoni et al., 2004 [Aharoni et al., 2004]
Abb. 2-5-9:	Zusammenfassung der zellinternen Prozesse für die Synthese der flüchtigen Inhaltsstoffe in der Pflanze nach Pichersky et al., 2006 [Pichersky et al., 2006]
Abb. 2-5-10:	Isomerisierung von IPP und DMAPP nach Maier, 2010 [Maier, 2010]
Abb. 2-5-11:	Kupplung von DMAPP und IPP nach Maier, 2010 [Maier, 2010]

---

Abb. 2-5-12:	Gegenüberstellung des klassischen Acetat-Mevalonat-Weges und des DOX-P-Weges nach Bickel-Sandkötter, 2008 [Bickel-Sandkötter, 2008]
Abb. 2-5-13:	Biogenese der Mono- und Sesquiterpene nach Breitmaier, 2004 [Breitmaier, 2004]
Abb. 3-2-1:	Kalibrationskurve von Lycopin
Abb. 3-2-2:	Kalibrationskurve von $\alpha$ -Carotin
Abb. 3-2-3:	Kalibrationskurve von $\beta$ -Carotin
Abb. 3-2-4:	Kalibrationskurve von Lutein
Abb. 3-2-5:	Kalibrationskurve von Falcarindiol
Abb. 3-2-6:	Kalibrationskurve von Falcarinol
Abb. 3-2-7:	Kalibrationskurve Fructose
Abb. 3-2-8:	Kalibrationskurve Glucose
Abb. 3-2-9:	Kalibrationskurve Saccharose
Abb. 3-4-1:	Verfahrensablauf der Untersuchung der Karottenproben
Abb. 3-4-2:	HPLC-Analytik von Lutein, $\alpha$ - und $\beta$ -Carotin unter Verwendung verschiedener Extraktionsmethoden mit ihren charakteristischen Lösungsmitteln. A: ASE, Essigsäureethylester/Petrolether/Methanol (1:1:1, v/v/v); B: Soxhlet, n-Hexan; C: SPE, Methanol/Methylenchlorid (45:55, v/v)
Abb. 3-4-3:	HPLC-Analytik von FaDOH, FaDOH-3-Acetat und FaOH unter Verwendung verschiedener Extraktionsmethoden mit ihren charakteristischen Lösungsmitteln. A: ASE, Essigsäureethylester/Petrolether/Methanol (1:1:1, v/v/v); B: Soxhlet, Hexan; C: SPE, Methanol/Methylenchlorid (45:55, v/v)

- 
- Abb. 3-4-4: Vergleich der Carotinoideextraktion nach der Methode von Breithaupt (2004) [Breithaupt, 2004] für Karottensaft, Trester und gefriergetrocknetes Karottenpulver
- Abb. 3-4-5: HPLC-Chromatogramm der drei Carotinoide Lutein,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin unter Verwendung der ASE und dreier unterschiedlicher Lösungsmittelgemische: A: Essigsäureethylester/Petrolether/Methanol (1:1:1, v/v/v); B: Ethanol/n-Hexan (4:3, v/v) und C: n-Hexan
- Abb. 3-4-6: HPLC-Chromatogramm der drei Polyacetylene FaOH, FaDOH und FaDOH-3-Acetat unter Verwendung der ASE und dreier unterschiedlicher Lösungsmittelgemische: A: Essigsäureethylester/Petrolether/Methanol (1:1:1, v/v/v); B: Ethanol/n-Hexan (4:3, v/v) und C: n-Hexan; Peaks 1-5: nicht identifizierte Polyacetylene
- Abb. 3-4-7: HPLC-Chromatogramm zweier verschiedener Karottensorten, bei sauberer Trennung der Carotinoide. A: 'Nutrired', B: 'Nerac F1'
- Abb. 3-4-8: Extracted Ion Chromatogram (EIC) und saubere Peaktrennung der drei Zielpolyacetylene FaDOH, FaDOH-3-Acetat und FaOH unter Verwendung der optimierten HPLC-MS-Methode
- Abb. 3-4-9: Fragmentierung des Polyacetyls Falcarindiol
- Abb. 3-4-10: Fragmentierung des Polyacetyls Falcarinol
- Abb. 3-4-11: Fragmentierung des Polyacetyls Falcarindiol-3-Acetat
- Abb. 3-4-12: ASE-Extraktionsvergleich zwischen den Methoden von Schulz-Witte et al., 2010 [Schulz-Witte et al., 2010] und Pferschy-Wenzig et al., 2009 [Pferschy-Wenzig et al., 2009]. Die Werte für FaDOH und FaDOH-3-Acetat von Pferschy-Wenzig wurden basierend auf ihrer Berechnung für das FaOH ermittelt.



Abb. 4-1-1:	Carotinoidkonzentrationen von fünf verschiedenfarbigen Möhren während einer Tiefkühlagerung bei -68 °C über einen Zeitraum von sechs Monaten
Abb. 4-1-2:	Polyacetylenkonzentrationen von fünf verschiedenfarbigen Möhren während einer Tiefkühlagerung bei -68 °C über einen Zeitraum von sechs Monaten
Abb. 4-1-3:	Extraktion bis zur vollständigen Herauslösung der vier Carotinoide Lutein, $\alpha$ -, $\beta$ -Carotin und Lycopin mittels ASE bei den Sorten 'Nutrired' (Nu), 'Nerac F1' (NF1) sowie einem Wildmöhrengenotyp (WM)
Abb. 4-1-4:	Prozentuale Carotinoidrestgehalte, welche nach der ersten Extraktion noch im Probenmaterial verbleiben. Durchgeführt an den Sorten 'Nutrired' (Nu), 'Nerac F1' (NF1) sowie einem Wildmöhrengenotyps (WM) für die Carotinoide Lutein, $\alpha$ -Carotin, $\beta$ -Carotin und Lycopin
Abb. 4-1-5:	Extraktion bis zur vollständigen Herauslösung der drei Polyacetylene FaOH, FaDOH und FaDOH-3-Acetat mittels ASE bei den Sorten 'Nutrired' (Nu), 'Nerac F1' (NF1) sowie eines Wildmöhrengenotyps (WM)
Abb. 4-1-6:	Prozentuale Polyacetylenrestgehalte, welche nach der ersten Extraktion noch im Probenmaterial verbleiben. Durchgeführt an den Sorten 'Nutrired' (Nu), 'Nerac F1' (NF1) sowie eines Wildmöhrengenotyps (WM) für die Polyacetylene FaOH, FaDOH und FaDOH-3-Acetat.
Abb. 4-2-1:	Histogramm der Luteinverteilungen in 100 Kulturmöhrengenotypen des ersten Assoziationsversuchs
Abb. 4-2-2:	Histogramm der $\alpha$ -Carotinverteilungen in 100 Kulturmöhrengenotypen des ersten Assoziationsversuchs
Abb. 4-2-3:	Histogramm der $\beta$ -Carotinverteilungen in 100 Kulturmöhrengenotypen des ersten Assoziationsversuchs

---

Abb. 4-2-4:	Dendrogramm der Zielcarotinoide in 100 Kulturmöhrengenotypen mit drei Wiederholungen je Genotyp
Abb. 4-2-5:	Histogramm der FaOH-Konzentration in 100 Kulturmöhrengenotypen des ersten Assoziationsversuchs
Abb. 4-2-6:	Histogramm der FaDOH-Konzentration in 100 Kulturmöhrengenotypen des ersten Assoziationsversuchs
Abb. 4-2-7:	Histogramm der FaDOH-3-Acetat-Konzentration in 100 Kulturmöhrengenotypen des ersten Assoziationsversuchs
Abb. 4-2-8:	Dendrogramm der drei Polyacetylene FaOH, FaDOH und FaDOH-3-Acetat in 100 Kulturmöhrengenotypen mit drei Wiederholungen je Genotyp
Abb. 4-2-9:	Dendrogramm der statistischen Verrechnung von Carotinoiden und Polyacetylenen von 100 Kulturmöhrengenotypen mit drei Wiederholungen je Genotyp
Abb. 4-2-10:	Histogramm der Glucose-Konzentrationen in 100 Kulturmöhrengenotypen des ersten Assoziationsversuchs
Abb. 4-2-11:	Histogramm der Fructose-Konzentrationen in 100 Kulturmöhrengenotypen des ersten Assoziationsversuchs
Abb. 4-2-12:	Histogramm der Saccharose-Konzentration in 100 Kulturmöhrengenotypen des ersten Assoziationsversuchs
Abb. 4-2-13:	Korrespondenzanalyse der drei Hauptzucker Glucose, Fructose und Saccharose in 99 Kulturmöhrengenotypen
Abb. 4-2-14:	Hauptkomponentenanalyse von Carotinoiden, Polyacetylenen und Zuckern
Abb. 4-3-1:	Histogramm der Luteinverteilungen in 104 Wildmöhrengenotypen des zweiten Assoziationsversuchs
Abb. 4-3-2:	Histogramme der $\alpha$ -Carotinverteilungen in 104 Wildmöhrengenotypen des zweiten Assoziationsversuchs

---

Abb. 4-3-3:	Histogramm der $\beta$ -Carotinverteilungen in 104 Wildmöhrengenotypen des zweiten Assoziationsversuchs
Abb. 4-3-4:	Histogramm der Lycopinverteilungen in 104 Wildmöhrengenotypen des zweiten Assoziationsversuchs
Abb. 4-3-5:	Dendrogramm der Carotinoidverteilung in 104 Wildmöhrengenotypen, basierend auf einer dreifachen Wiederholung je Genotyp
Abb. 4-3-6:	Histogramm der FaOH-Verteilung in 104 Wildmöhrengenotypen des zweiten Assoziationsversuchs
Abb. 4-3-7:	Histogramm der FaDOH-Verteilungen in 104 Wildmöhrengenotypen des zweiten Assoziationsversuchs
Abb. 4-3-8:	Histogramm der FaDOH-3-Acetat-Verteilungen in 104 Wildmöhrengenotypen des zweiten Assoziationsversuchs
Abb. 4-3-9:	Dendrogramm der Polyacetylenverteilung in 104 Wildmöhrengenotypen, basierend auf einer dreifachen Wiederholung je Genotyp
Abb. 4-3-10:	Dendrogramm der Carotinoid- und Polyacetylenverteilung in 104 Wildmöhrengenotypen, basierend auf einer dreifachen Wiederholung je Genotyp
Abb. 4-3-11:	Korrespondenzanalyse von Carotinoiden und Polyacetylenen in 104 Wildmöhrengenotypen mit jeweils dreifacher Wiederholung je Genotyp
Abb. 4-4-1:	Carotinoidkonzentrationen in den Sorten 'White Satin', 'Yellowstone', '710015', 'Nutrired' und 'Santa Cruz' in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow (K) und Quedlinburg (Q)
Abb. 4-4-2:	Carotinoidkonzentrationen in den Sorten 'Nerac F1', 'Deep Purple F1', 'Anthonina', 'Blanche ½ longue des vosges' und 'Pusa Kesar' in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow (K) und Quedlinburg (Q)

- Abb. 4-4-3: Polyacetylenkonzentrationen in den Sorten 'White Satin', 'Yellowstone', '710015', 'Nutrired' und 'Santa Cruz' in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow (K) und Quedlinburg (Q)
- Abb. 4-4-4: Polyacetylenkonzentrationen in den Sorten 'Nerac F1', 'Deep Purple F1', 'Anthonina', 'Blanche ½ longue des vosges' und 'Pusa Kesar' in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow (K) und Quedlinburg (Q)
- Abb. 4-4-5: Zuckerkonzentrationen in den Sorten 'White Satin', 'Yellowstone', '710015', 'Nutrired' und 'Santa Cruz' in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow (K) und Quedlinburg (Q)
- Abb. 4-4-6: Zuckerkonzentrationen in den Sorten 'Nerac F1', 'Deep Purple F1', 'Anthonina', 'Blanche ½ longue des vosges' und 'Pusa Kesar' in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow (K) und Quedlinburg (Q)
- Abb. 4-4-7: Hauptkomponentenanalyse der Mittelwerte der zehn Kulturmöhrengenotypen aus den Feldversuchen Krakow/Quedlinburg in den Jahren 2008/2009 (mit "F" gekennzeichnet) und denselben Genotypen aus dem Assoziationsversuch I (mit "AS I" gekennzeichnet)
- Abb. 4-5-1: Gemittelte Carotinoidkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen der Sorte 'Nevis' für jede der 17 Erntestadien bei 19 Wochen Wachstumsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung
- Abb. 4-5-2: Gemittelte Carotinoidkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen der Sorte 'Rotin' für jede der 17 Erntestadien bei 19 Wochen Wachstumsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung
- Abb. 4-5-3: Gemittelte Polyacetylenkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen der Sorte 'Nevis' für jede der 17 Erntestadien bei 19 Wochen Wachstumsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung

---

Abb. 4-5-4:	Gemittelte Polyacetylenkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen der Sorte 'Rotin' für jede der 17 Erntestadien bei 19 Wochen Wachstumsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung
Abb. 4-5-5:	Gemittelte Zuckerkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen der Sorte 'Nevis' für jede der 17 Erntestadien bei 19 Wochen Wachstumsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung
Abb. 4-5-6:	Gemittelte Zuckerkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen der Sorte 'Rotin' für jede der 17 Erntestadien bei 19 Wochen Wachstumsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung
Abb. 4-5-7:	Gemittelte Carotinoidkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen (ab der 8. Wachstumswoche) des Wildmöhrengenotyps DAL 377/00-10 für jede der 11 Erntestadien bei einer Wachstumsdauer von 12 Wochen
Abb. 4-5-8:	Gemittelte Carotinoidkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen (ab der 8. Wachstumswoche) des Wildmöhrengenotyps GRGGGB 11057 für jede der 11 Erntestadien bei einer Wachstumsdauer von 12 Wochen
Abb. 4-5-9:	Gemittelte Polyacetylenkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen (ab der 8. Wachstumswoche) des Wildmöhrengenotyps DAL 377/00-10 für jede der 11 Erntestadien bei einer Wachstumsdauer von 12 Wochen
Abb. 4-5-10:	Gemittelte Polyacetylenkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen (ab der 8. Wachstumswoche) des Wildmöhrengenotyps GRGGGB 11057 für jede der 11 Erntestadien bei einer Wachstumsdauer von 12 Wochen
Abb. A-7-1:	Karottenproduktion in der EU von 2006 bis 2009 in 1.000 t nach Eurostat, 2010 [Eurostat, 2010]
Abb. A-7-2:	<sup>1</sup> H-NMR Spektrum von Falcarindiol der Firma SiChem, Bremen in CDCl <sub>3</sub>

---

Abb. A-7-3:	1-H-NMR Spektrum von Falcarinol der Firma Toroma Organics, Saarbrücken, in CDCl <sub>3</sub> , erzeugt mit einem Bruker Avance 500 MHz der Firma Bruker Daltonik GmbH, Bremen
Abb. A-7-4:	Simultane Probenaufarbeitung für Carotinoide und Polyacetylene mittels ASE-200
Abb. A-7-5:	Verrechnung der 23 flüchtigen Inhaltsstoffe aus dem Assoziationsversuch I
Abb. A-7-6 bis A-7-8:	Wurzel- und Knollengemüse – BBCH-Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien von Wurzel- und Knollengemüse nach Feller et al., 1995 [Feller et al., 1995]
Abb. A-7-9:	Keimblattstadium der Kulturmöhrensorten 'Nevis' und 'Rotin' sowie der Wildmöhrengenotypen GRCGGB 11057 und DAL 37/00-10
Abb. A-7-10:	Primärblattstadium der Kulturmöhrensorten 'Nevis' und 'Rotin' sowie der Wildmöhrengenotypen GRCGGB 11057 und DAL 37/00-10
Abb. A-7-11:	Ontogenesestadien der Kulturmöhrensorte 'Nevis' über eine Kultivierungsdauer von neunzehn Wochen inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung
Abb. A-7-12:	Ontogenesestadien der Kulturmöhrensorte 'Rotin' über eine Kultivierungsdauer von neunzehn Wochen inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung
Abb. A-7-13:	Ontogenesestadien des Wildmöhrengenotyps DAL 377/00-10 über eine Kultivierungsdauer von zwölf Wochen
Abb. A-7-14:	Ontogenesestadien des Wildmöhrengenotyps GRCGGB 11057 über eine Kultivierungsdauer von zwölf Wochen
Abb. A-7-15:	Lutein -Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17

- Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierungsdauer  
inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche  
Regenerationszeit nach dem Kältestress
- Abb. A-7-16:  $\alpha$ -Carotin-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und  
Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17  
Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierungsdauer  
inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche  
Regenerationszeit nach dem Kältestress
- Abb. A-7-17:  $\beta$ -Carotin-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und  
Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17  
Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierungsdauer  
inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche  
Regenerationszeit nach dem Kältestress
- Abb. A-7-18: Lutein-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und  
Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17  
Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierungsdauer  
inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche  
Regenerationszeit nach dem Kältestress
- Abb. A-7-19:  $\alpha$ -Carotin-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und  
Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17  
Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierungsdauer  
inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche  
Regenerationszeit nach dem Kältestress
- Abb. A-7-20:  $\beta$ -Carotin-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und  
Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17  
Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierungsdauer  
inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche  
Regenerationszeit nach dem Kältestress
- Abb. A-7-21: FaOH-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und  
Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17  
Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2  
Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit  
nach dem Kältestress

- Abb. A-7-22: FaDOH-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress
- Abb. A-7-23: FaDOH-3-Acetat-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress
- Abb. A-7-24: FaOH-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress
- Abb. A-7-25: FaDOH-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress
- Abb. A-7-26: FaDOH-3-Acetat-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress
- Abb. A-7-27: Fructose-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress
- Abb. A-7-28: Glucose-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2



- 
- Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit  
nach dem Kältestress
- Abb. A-7-29: Saccharose-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel-  
und Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17  
Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2  
Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit  
nach dem Kältestress
- Abb. A-7-30: Fructose-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und  
Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17  
Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2  
Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit  
nach dem Kältestress
- Abb. A-7-31: Glucose-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und  
Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17  
Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2  
Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit  
nach dem Kältestress
- Abb. A-7-32: Saccharose-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel-  
und Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17  
Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2  
Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit  
nach dem Kältestress
- Abb. A-7-33: Foto des Wildmöhrengenotyps 171

Tabellenverzeichnis

Tab. 1-1-1:	Karottenerzeugung in der EU von 2004 bis 2009 in 100 t nach Behr, 2010 [Behr, 2010]
Tab. 1-1-2:	Möhrenanbau von Karotten in Deutschland von 2005 bis 2009 nach Behr, 2010 [Behr, 2010]
Tab. 1-1-3:	Weltweite Produktion von Karotten von 2003 bis 2008 in 1.000 t nach Behr, 2010 [Behr, 2010]
Tab. 1-3-1:	Inhaltsstoffe der orangenen Kulturmöhre in 100 g essbarem Anteil nach Souci et al., 2000 [Souci et al., 2000]
Tab. 2-1-1:	Sekundäre Inhaltsstoffe in Pflanzen und ihre Wirkungen nach Watzl und Leitzmann, 1995 [Watzl und Leitzmann, 1995] A = antikanzerogen                      F = entzündungshemmend B = antimikrobiell                      G = Blutdruck-regulierend C = antioxidativ                      H = Cholesterin-senkend D = antithrombotisch                      I = Blutglucose-regulierend E = immunmodulierend                      J = verdauungsfördernd
Tab. 2-2-1:	Antioxidatives Potenzial der Zielcarotinoide nach Sies und Stahl, 1995 [Sies und Stahl, 1995]
Tab. 2-2-2:	Carotinoidgehalte einiger Obst- und Gemüsesorten in mg/100 g FM nach Mangels et al., 1993 [Mangels et al., 1993]
Tab. 2-3-1:	Übersicht über charakteristische UV-Maxima ausgewählter Polyacetylene nach Bentley et al., 1969 [Bentley et al., 1969]
Tab. 2-5-1:	Schema der Terpenoidfamilie nach Schopfer und Brennicke, 2006 [Schopfer und Brennicke, 2006]

---

Tab. 2-5-2:	Terpene, isoliert aus Karotten nach Kreutzmann, 2007 [Kreutzmann, 2007] mit Geruchsbeschreibung nach Burdock, 2002 [Burdock, 2002], wenn vorhanden
Tab. 2-5-3:	Andere flüchtige Inhaltsstoffe, isoliert aus Karotten nach Kreutzmann, 2007 [Kreutzmann, 2007] mit der Geruchsbeschreibung nach Burdock, 2002 [Burdock, 2002]
Tab. 3-1-1:	Standard-Karotten-Genotypen mit Herkunftsbezeichnung für die Feldstudien 2008/2009
Tab. 3-1-2:	In den Ontogeneseversuchen I und II verwendetes Karottenmaterial und dessen Spezifizierung
Tab. 3-4-1:	Bestimmung der Restfeuchtegehalte von gefriergetrocknetem Kultur- und Wildmöhrenpulver
Tab. 3-4-2:	Optimale ASE-Parameter für die simultane Carotinoid- und Polyacetylenextraktion
Tab. 4-2-1:	Inhaltsstoffspektrum mit Maxima, Minima, Mittelwerten, Standardabweichungen sowie der Anzahl der gültigen Stichproben von 100 Kulturmöhrengenotypen in mg/100 g FM
Tab. 4-2-2:	Fünf Carotinoid-Ausreißer, basierend auf einer PCA, durchgeführt mit 100 Kulturmöhrengenotypen mit drei Wiederholungen je Genotyp in mg/100 g FM
Tab. 4-2-3:	Acht Polyacetylen-Ausreißer, basierend auf einer PCA, durchgeführt mit 100 Kulturmöhrengenotypen mit drei Wiederholungen je Genotyp in mg/100 g FM
Tab. 4-2-4:	Fünfzehn Ausreißer, basierend auf einer PCA, durchgeführt mit 100 Kulturmöhrengenotypen mit drei Wiederholungen je Genotyp anhand der Polyacetylen- und Carotinoidkonzentrationen in mg/100 g FM

---

Tab. 4-2-5:	10 Kulturmöhrensornten des ersten Assoziationsversuchs mit den jeweils höchsten Lutein-, $\alpha$ - und $\beta$ -Carotinkonzentrationen in mg/100 g FM
Tab. 4-2-6:	10 Kulturmöhrensornten des ersten Assoziationsversuchs mit den jeweils höchsten Polyacetylenkonzentrationen an FaDOH, FaDOH-3-Acetat und FaOH in mg/100 g FM
Tab. 4-2-7:	10 Kulturmöhrensornten des ersten Assoziationsversuchs mit den jeweils höchsten Zuckerkonzentrationen an Glucose, Fructose und Saccharose in mg/100 g FM
Tab. 4-3-1:	Inhaltsstoffspektrum mit Maxima, Minima, Mittelwerten, Standardabweichungen sowie der Anzahl der gültigen Stichproben von 104 Kuturmöhrengenotypen in mg/100 g FM
Tab. 4-3-2:	Acht Ausreißer aus 104 Wildmöhrengenotypen mit außergewöhnlichem Carotinoidspektrum in mg/100 g FM
Tab. 4-3-3:	Sieben Ausreißer aus 104 Wildmöhrengenotypen mit außergewöhnlichem Polyacetylenpektrum in mg/100 g FM
Tab. 4-3-4:	Neun Ausreißer aus 104 Wildmöhrengenotypen mit außergewöhnlichem Polyacetylen- und Carotinoidspektrum in mg/100 g FM
Tab. 4-3-5:	Verteilung der Polyavetylene FaDOH, FaDOH-3-Acetat und FaOH in 104 Wild- und 100 Kulturmöhren in mg/100 g FM
Tab. 4-4-1:	Untersuchte Genotypen in dem zweiortigen, zweijährigen Feldversuch mit ihren Abkürzungen für die statistische Verrechnung
Tabelle A-7-1:	Korrelationsmatrix der flüchtigen Inhaltsstoffe in den Karottenblättern und den nicht-flüchtigen Inhaltsstoffen in den dazugehörigen Karottenwurzeln von 100 Kulturmöhrengenotypen

---

Tabelle A-7-2:	Konzentrationen der nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe in 100 untersuchten Kulturmöhrenotypen aus dem Assoziationsversuch I (* = kein Material für eine Analyse vorhanden)
Tabelle A-7-3:	Konzentrationen der nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe in 104 untersuchten Wildmöhrenotypen aus dem Assoziationsversuch II
Tabelle A-7-4:	Korrelationsmatrix der sechs Zielsubstanzen in Karottenwurzeln (W) und Karottenblättern (B) über 15 Ontogenesestadien

Formelverzeichnis

- Formel 2-2-1: Bildung des Isopentenylidiphosphats aus 3 Acetyl-CoA über den Mevalonatweg nach Schopfer und Brennicke, 2006 [Schopfer und Brennicke, 2006]
- Formel 2-4-1: Formel für die Saccharosebestimmung nach Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB [Amtliche Sammlung nach § 64 LFGB, Stand: September 1997]
- Formel 2-4-2: Reaktion für die D-Glucosebestimmung nach Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB [Amtliche Sammlung nach § 64 LFGB, Stand: Januar 1997]
- Formel 2-4-3: Reaktion für die D-Fructosebestimmung nach Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB [Amtliche Sammlung nach § 64 LFGB, Stand: Januar 1997]

## 1 Einleitung

In der menschlichen Ernährung spielt die Wurzel der Kulturmöhre, auch Karotte (*Daucus carota* ssp. *sativus*) genannt, aufgrund ihres süßlichen Wohlgeschmacks sowie ihrer guten Verträglichkeit [Heilpflanzen-Welt, 2010] eine wichtige Rolle: Sie ist das erste verarbeitete Lebensmittel, welches Kinder in Form von Brei bzw. Saft zu sich nehmen. Auch in der Folgeernährung der Menschen hat die Karotte einen nicht unerheblichen Stellenwert in Form von Säften und Saftzusätzen, als rohe/gekochte Gemüsebeilage oder als färbender Zusatzstoff in veredelten Produkten der Lebensmittelindustrie [Britton et al., 2004]. Karottenpräparate wie z. B. Karottensamenöl werden außerdem in der Kosmetik- und in der Pharmaindustrie verwandt [Heilpflanzen-Welt, 2010]. Von den Inhaltsstoffen der Karotte sind die chemischen Gruppen der Carotinoide und Anthocyane wegen ihrer antioxidativen Wirkung sowie die Gruppe der Polyacetylene wegen ihres antikanzerogenen Potenzials von besonderer Bedeutung. Wegen des bitteren Fehlgeschmacks der Polyacetylene sind deren Gehalte darüber hinaus für die direkte Vermarktung und die Lebensmittelindustrie von Interesse, da ein bitterer Geschmack in der Karotte bei den Verbrauchern auf Ablehnung stößt. Außerdem sind die Polyacetylenkonzentrationen von großem Interesse für die pharmazeutische Industrie, welche aufgrund des hohen antikanzerogenen Potenzials der Polyacetylene ein gesteigertes Interesse an einer wirtschaftlichen Gewinnung aus Pflanzen hat.

Da Kulturmöhren neben Carotinoiden und Polyacetylenen besonders über einen hohen Gehalt an löslichen Kohlenhydraten verfügen, welcher maßgeblich zu dem typischen Karottengeschmack beitragen, wird in vielen Fällen der bittere Geschmack von Polyacetylenen durch den süßen Eindruck, welcher auf die Kohlenhydrate zurückzuführen ist, maskiert. Neben den Kulturmöhren stehen die Wildmöhren in neuerer Zeit im Fokus der Wissenschaft. Wildmöhren weisen im Gegensatz zu den Kulturmöhren recht stark verholzte Wurzeln sowie häufig einen bitteren Geschmack auf, was auf hohe Gehalte an Polyacetylenen schließen lässt und sie damit für pharmazeutische Zwecke interessant macht. Für eine Auswahl der Genotypen von Kultur- und/oder Wildmöhren, die wegen ihrer Carotinoid- und Polyacetylengehalte in den Fokus weiterer Forschung und Entwicklung gestellt werden könnten, fehlt es an einer systematischen Erfassung der Inhaltsstoffe von Karotten.

## 1.1 Thematische Einleitung

### 1.1.1 Wirtschaftliche Bedeutung und Konsumgewohnheiten von *Daucus carota* L.

In Deutschland gehört *Daucus carota* L., wie der Abbildung 1-1-1 zu entnehmen ist, mit einem Anbauvolumen von 10.500 Hektar zu der zweitwichtigsten Gemüseart.

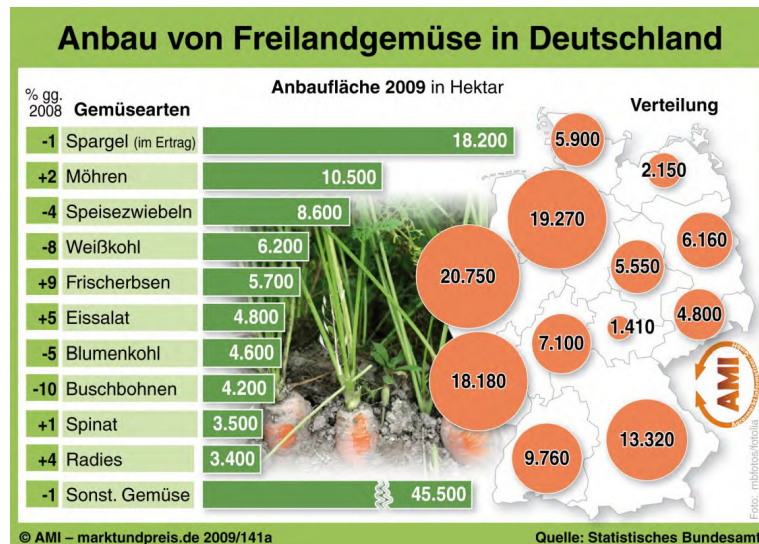


Abbildung 1-1-1: Anbau von Freilandgemüse in Deutschland im Jahr 2009 in ha nach Behr, 2010 [Behr, 2010]

Sowohl die Anbaufläche als auch die Ertragszahlen sind von 2004 bis heute relativ kontinuierlich gestiegen (siehe Tabelle 1-1-1).



Tabelle 1-1-1: Karottenerzeugung in der EU von 2004 bis 2009 in 100 t nach Behr, 2010 [Behr, 2010]

Produktionsland	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Belgien	292	239	236	235	235	.
Dänemark	62	62	69	69	.	.
Deutschland	554	516	504	562	547	570
Griechenland	36	37	37	45	48	.
Spanien	445	478	489	426	398	404
Frankreich	672	659	625	590	557	600
Irland	23	.	.	.	.	.
Italien	607	602	620	565	595	624
Luxemburg	0	0	0	0	0	0
Niederlande	471	487	541	543	496	515
Portugal	54	.	.	.	.	.
Großbritannien	671	718	701	752	737	750
Österreich	81	79	77	74	81	84
Schweden	110	97	116	89	92	102
Finnland	57	67	57	68	61	.
EU-15	4.135	4.118	4.149	4.095	3.994	4.140
Tschechien	30	25	25	28	.	.
Estland	8	10	9	14	12	.
Lettland	33	35	32	30	36	.
Litauen	67	72	38	58	52	.
Ungarn	107	80	84	78	75	.
Zypern	2	2	2	2	2	2
Malta	2	1	1	2	1	1
Polen	928	929	833	938	817	913
Slowenien	3	3	3	3	3	.
Slowakei	16	11	13	8	9	.
Bulgarien	34	14	13	10	13	.
Rumänien	98	153	194	114	151	163
EU-27	5.463	5.453	5.396	5.380	5.191	5.443

2009 lag der Karottenertrag in Deutschland bei 570.000 Tonnen, was einem Ertrag pro Hektar von 545 dt entspricht. Zusätzlich zu der in Deutschland produzierten Menge wurden 2009 noch 242.835 t Karotten importiert [Behr, 2010] (siehe Tabelle 1-1-2), vor allem für das Bio-Segment, welches sich in Deutschland einer steigenden Nachfrage erfreut. Diese Importe stammen überwiegend aus Israel. Der Karottenexport aus Deutschland betrug demgegenüber im Jahr 2009 nur 54.000 t (siehe Abbildung 1-2).

Tabelle 1-1-2: Möhrenanbau von Karotten in Deutschland von 2005 bis 2009 nach Behr, 2010 [Behr, 2010]

Möhrenanbau in Deutschland	2005	2006	2007	2008	2009
Erntemenge (1.000 t)	516	504	562	547	570
Flächenerträge (dt/ha)	524	502	550	535	545
Anbaufläche (ha)	9.858	10.043	10.226	10.226	10.471
Möhrenimporte (t)	189.731	179.486	237.431	233.238	242.835

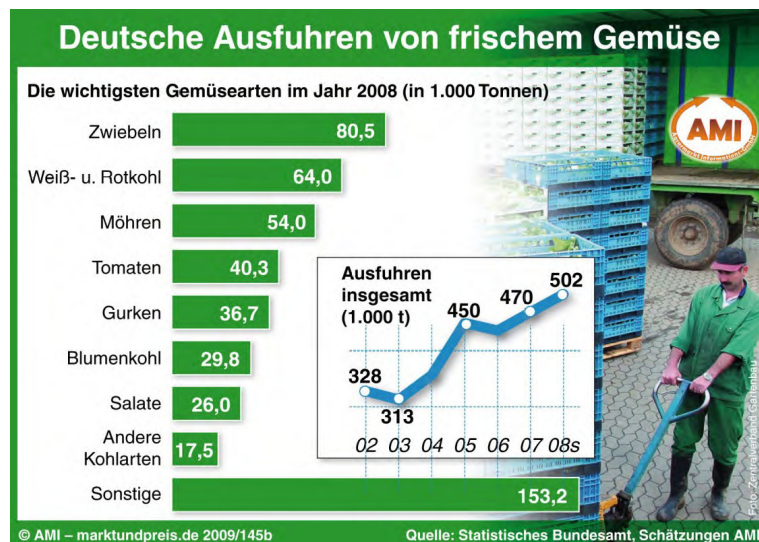


Abbildung 1-1-2: Gemüseausfuhr aus Deutschland im Jahr 2008 in 1.000 t nach Behr, 2010 [Behr, 2010]

Als Speisegemüse ist die Karotte sehr beliebt. Im Jahr 2009 wurden pro Haushalt in Deutschland 7,8 kg Karotten gekauft. Lediglich Tomaten erfreuten sich mit einem Verbrauch von 10,3 kg pro Haushalt im Jahr 2009 als Gemüse größerer Beliebtheit [Behr, 2010] (siehe Abbildung 1-1-3).

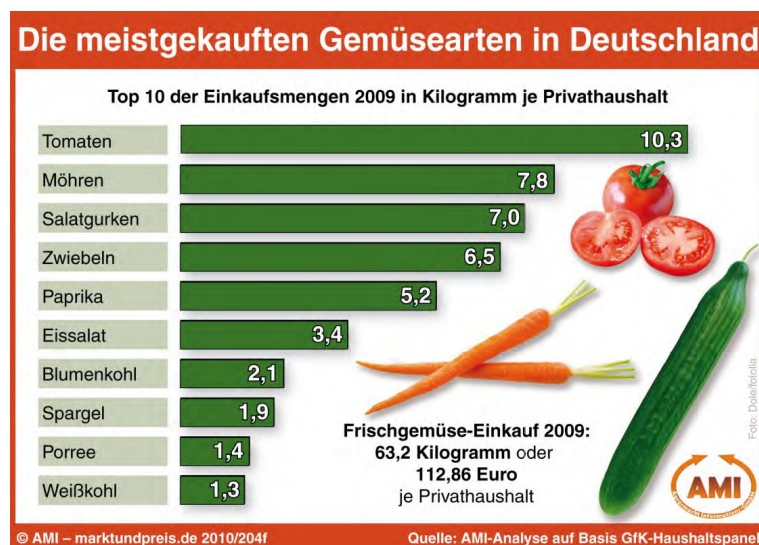


Abbildung 1-1-3: Meistgekauftes Gemüse in Deutschland im Jahr 2009 in kg nach Behr, 2010 [Behr, 2010]

Innerhalb der Europäischen Union werden Karotten hauptsächlich in den Ländern Polen, Italien, Frankreich, Großbritannien und Deutschland erzeugt (siehe Tabelle 1-1-1 und Abbildung 7-1 im Anhang); im Jahr 2009 lag die Produktionsmenge dieser Länder insgesamt bei 3.457.000 Tonnen. Dies entspricht etwa 63,5 % der Gesamtproduktion an Karotten in der EU. Den größten Anteil daran hat Polen mit nahezu kontinuierlich 900.000 Tonnen pro Jahr.

Innerhalb der Welterzeugung von Karotten nimmt die EU nach Asien den zweiten Platz ein, gefolgt von Nord- und Mittelamerika sowie Afrika (siehe Tabelle 1-1-3).

Tabelle 1-1-3: Weltweite Produktion von Karotten von 2003 bis 2008 in 1.000 t nach Behr, 2010 [Behr, 2010]

Produktionsland	2003	2004	2005	2006	2007	2008
EU	8.687	9.364	9.220	9.078	9.078	9.317
Afrika	1.146	1.206	1.215	1.199	1.257	1.199
Nord- und Mittelamerika	2.392	2.376	2.404	2.384	2.245	2.247
Südamerika	954	954	983	1.054	1.052	1.122
Asien	10.522	11.610	11.805	12.211	12.814	13.165
Ozeanien	371	368	381	330	337	337
Welt	24.072	25.878	26.008	26.256	26.783	27.387

Sowohl Ozeanien als auch Südamerika tragen nur sehr wenig zur weltweiten Karottenproduktion bei, die im Jahre 2008 eine Gesamtmenge von 27.387.000 Tonnen betrug [Behr, 2010]. *Daucus carota* L. ist weltweit als Wildform (*Daucus carota* spp. *carota*) anzutreffen und wird, wie der Abbildung 1-1-4 zu entnehmen ist, als Kulturform (*Daucus carota* spp. *sativus*) in Europa, der Türkei/Afghanistan, im ostasiatischen Raum, Südastralien, der Ostküste Lateinamerikas sowie an der Ost- und Westküste Amerikas kultiviert. Ihren genetischen Ursprung hat die Karotte jedoch im Gebiet des heutigen Afghanistans.

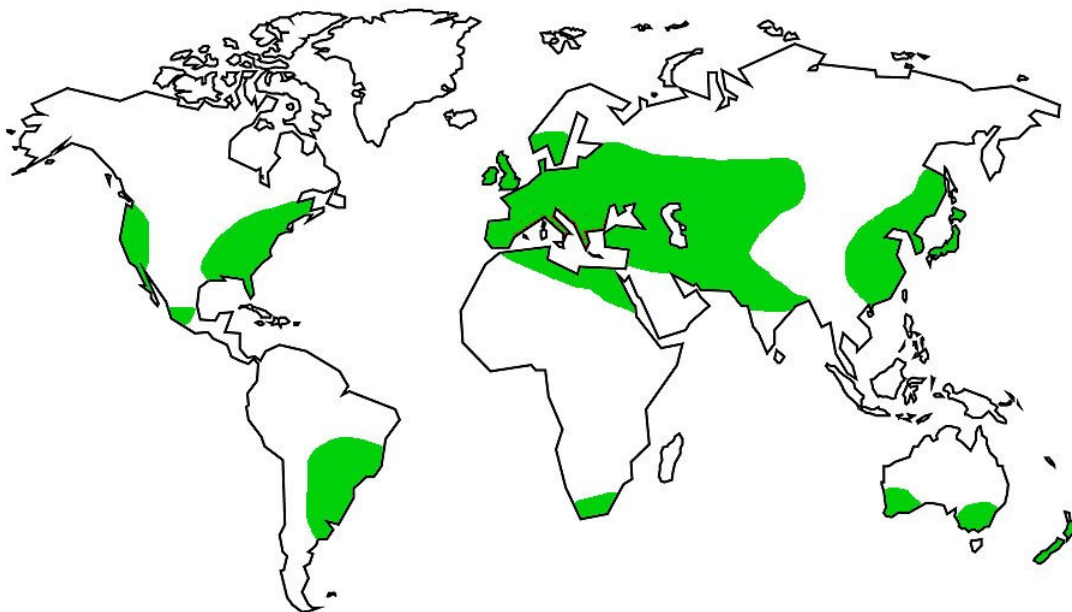


Abbildung 1-1-4: Weltkarte der Anbaubereiche von *Daucus carota* L. nach carrotmuseum [carrotmuseum, 2010]

### 1.1.2 Gesundheitsfördernde Inhaltsstoffe in der Karotte

Neben ihren geschmacklichen Eigenschaften ist die Karotte vor allem wegen ihres gesundheitsfördernden Potenzials sowohl bei den Konsumenten als auch in der Industrie beliebt und wird vielseitig verwandt. Neben den „klassischen“ Verwendungsformen als Saft, Brei, rohes und gekochtes Gemüse werden Karotten vor allem in der Industrie als Lieferant natürlicher Farbstoffe und gesundheitsfördernder Zusätze genutzt [Olson, 1989; Simon, 1990]. Das Farbspektrum, welches durch den Einsatz von Inhaltsstoffen der Karotten als färbende Lebensmittelzusätze erreicht werden kann, reicht von Hellgelb über Orange, Rot bis zu einem dunklen Violett. Die färbenden Substanzen stammen aus zwei chemischen Gruppen von Inhaltsstoffen: zum einen aus der Gruppe der Carotinoide, zum anderen aus der Gruppe der Anthocyane.

Hinsichtlich der gesundheitsfördernden Effekte stellen die Carotinoide die wichtigste Gruppe von Inhaltsstoffen dar. Carotinoide wirken im menschlichen Körper als Antioxidantien und sollen in der Lage sein, vor Krebs und Hauterkrankungen zu schützen [Kahkonen et al., 1999; Leja et al., 2003; Leja et al., 2001; Velioglu et al., 1998].

Das wohl wichtigste Carotinoid in der Karotte ist das  $\beta$ -Carotin, welches im menschlichen Körper zu Vitamin A umgebildet wird und ein hohes antioxidatives Potenzial besitzt [Olson, 1989; Simon, 1990]. In der menschlichen Ernährung stellt die Karotte den Hauptlieferanten für Carotinoide dar und erreicht unter den Gemüsearten die höchsten  $\beta$ -Carotingehalte.

Weitere wichtige Carotinoide sind das  $\alpha$ -Carotin, Lutein und Lycopin.

Lycopin ist ein rotes Pigment und kommt hauptsächlich in roten Karotten vor [Buishand und Gabelman, 1980; Surles et al., 2004]. Das antioxidative Potenzial des Lycopins ist bis zu zweimal höher als das des  $\beta$ -Carotins; überdies soll Lycopin antikanzerogen wirken sowie im Bereich der Vorsorge vor Erkrankung der Herzkranzgefäße und vor Diabetes schützen [Bramley, 2000; Fraser und Bramley, 2004].

Die in Möhren enthaltenen Polyacetylene wirken beim Menschen ebenfalls als Radikalfänger. Bei ihnen ließ sich überdies eine antikanzerogene Wirkung nachweisen [siehe Brandt et al., 2007]. Polyacetylene sind besonders in Wildmöhren, jedoch auch in einigen Kulturmöhren zu finden [Pferschy-Wenzig et al., 2009] und verursachen einen bitteren Geschmack [Czepa, 2004]. Dieser Fehlgeschmack ist besonders bei der Direktvermarktung, jedoch auch in der verarbeitenden Lebensmittelindustrie unerwünscht. Wegen der in jüngster Zeit diskutierten möglichen Wirkung in der Krebsprävention und Krebstherapie sind Polyacetylene von großem Interesse für die pharmazeutische Industrie.

Sie könnten als Bestandteil von Krebspräparaten eingesetzt werden. Gegenwärtig werden Polyacetylene für pharmazeutische Zwecke vornehmlich aus Ginseng-Wurzeln gewonnen, was nicht nur in den mitteleuropäischen Klimaten kostenintensiv ist. Karotten könnten als Lieferanten von Polyacetylenen aufgrund ihrer guten Eignung zu industriellem Anbau, bei Ernte und Verarbeitung eine – auch wirtschaftlich interessante - Alternative darstellen.

## 1.2 Zielstellung

Das veröffentlichte Datenmaterial zu den nicht-flüchtigen Inhaltsstoffen von Karotten ist hinsichtlich der untersuchten Genotypen eng begrenzt. Bisher wurde nur eine kleine Auswahl verschiedener Kulturmöhren und vereinzelter Wildtypen auf die Bitterstoffe (Polyacetylene) untersucht. Ein breit angelegtes Screening der Polyacetylengehalte von am Markt verfügbaren sowie in Genbanken eingelagerten Kulturmöhren wurde bisher nicht durchgeführt. Auch fehlt es an einem breit gefächerten Überblick über die Präsenz von Polyacetylenen und Carotinoiden in Wildtypen.

Durch die Analyse von jeweils 100 Genotypen Kulturmöhren und 104 Genotypen Wildmaterials, die unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus gezogen wurden, sollen die bestehenden Datenlücken geschlossen werden. Gleichzeitig werden Einblicke in die Verteilung von Polyacetylenen, Carotinoiden und Zuckern gewonnen. Anhand der ermittelten Polyacetylen- und Ertragsdaten von Wild- und Kulturmöhren sollen zum einen Genotypen herausgefiltert werden, die für eine industrielle Gewinnung von Polyacetylenen in Frage kommen, zum anderen Kulturmöhren identifiziert werden, welche durch ihre hohen natürlichen Polyacetylengehalte und des damit einhergehenden bitteren Geschmacks für den menschlichen Genuss nur eingeschränkt einsetzbar sind; jedoch auch, bei ausreichender Maskierung des bitteren Geschmacks durch Kohlenhydrate, als besonders gesundheitsfördernde Lebensmittel vermarktet werden können.

Zweijährige zweiortige Feldversuche an den Standorten Krakow und Quedlinburg sollen die Auswirkungen verschiedener klimatischer und bodenbedingter Einflüsse auf eine Auswahl einiger wirtschaftlich bedeutsamer Kulturmöhren zeigen.

Darüber hinaus soll für die Möglichkeit einer Vorernteuntersuchung bei Karotten die Hypothese überprüft werden, ob anhand des Spektrums flüchtiger Inhaltsstoffe im Blatt Rückschlüsse auf die nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe in der Wurzel möglich sind [Hampel et al., 2005].

---

Schließlich sollen die Synthesezeitpunkte von Carotinoiden und Polyacetylenen anhand von jeweils zwei Kultur- und zwei Wildmöhrentypen, die in Klimakammern unter definierten exogenen Wachstumsbedingungen gezogen wurden, bestimmt werden. Dabei soll die These überprüft werden, dass exogener Stress zu einer Veränderung in den Inhaltsstoffen führt. Als exogener Stress wurde in dieser Studie der Kältestress gewählt. Um ein derart umfangreiches Analyseprogramm umzusetzen zu können, musste zunächst eine verlässliche, schnelle und effektive Extraktionsmethode für die simultane Extraktion von Polyacetylenen und Carotinoiden entwickelt werden. Außerdem war für das umfassende Screening eine verfahrenstechnische Optimierung der anschließenden Probenaufbereitung und der Analysemethoden erforderlich.

### 1.3 Allgemeine Grundlagen

#### 1.3.1 *Daucus carota* L. (Botanik und Morphologie)

Die Kulturmöhre (*Daucus carota* ssp. *sativus*), welche zur Familie der Apiaceen und innerhalb dieser zur Gattung '*Daucus*' gehört, die 22 Arten umfasst, entstand vermutlich aus einer Kreuzung zwischen Wildmöhren (*Daucus carota* L. ssp. *carota*), welche ihren genetischen Ursprung im heutigen Afghanistan haben, und der im Mittelmeerraum angesiedelten Riesenmöhre (*Daucus carota* L. ssp. *maximus*) [Franke, 1997]. Zu der Klasse der Kulturmöhren werden auch 12 Wildmöhrentypen gezählt, die wegen des Fehlens von natürlichen Barrieren frei hybridisieren können [Heywood, 1983]. *Daucus*-Arten sind ein- oder zweijährige Pflanzen, die für gewöhnlich eine kurze vegetative Phase haben und sich an eine Vielzahl klimatischer Bedingungen einschließlich der gemäßigten europäischen Klimaten angepasst haben. Im ersten Wachstumsjahr bildet die Karotte eine Rosette aus doppelt bis dreifach gefiederten Blättern aus, während die Assimilate in der fleischigen Bastrübe gespeichert werden, welche aus einem kurzen Hypokotylabschnitt und der Hauptwurzel besteht und sich durch ein frühzeitiges Dickenwachstum auszeichnet. Wird die Speicherwurzel nach dem ersten Jahr nicht geerntet, wächst der Spross und bildet unter Auflösung der Speicherwurzel und dem gleichzeitigen Verbrauch der in ihr gespeicherten Nährstoffe in einem Infloreszenzprozess Blüten aus, aus welchen wiederum Saatgut gewonnen werden kann [Franke, 1997] (Abbildung 1-3-1). Bei der genaueren Betrachtung der Karottenwurzel wird zwischen dem härteren, verholzten Xylem und dem zarteren, fleischigeren Teil, dem Phloem, unterschieden. Beide Teile werden durch eine dünne Schicht getrennt, dem Kambium (Abbildung 1-3-1).

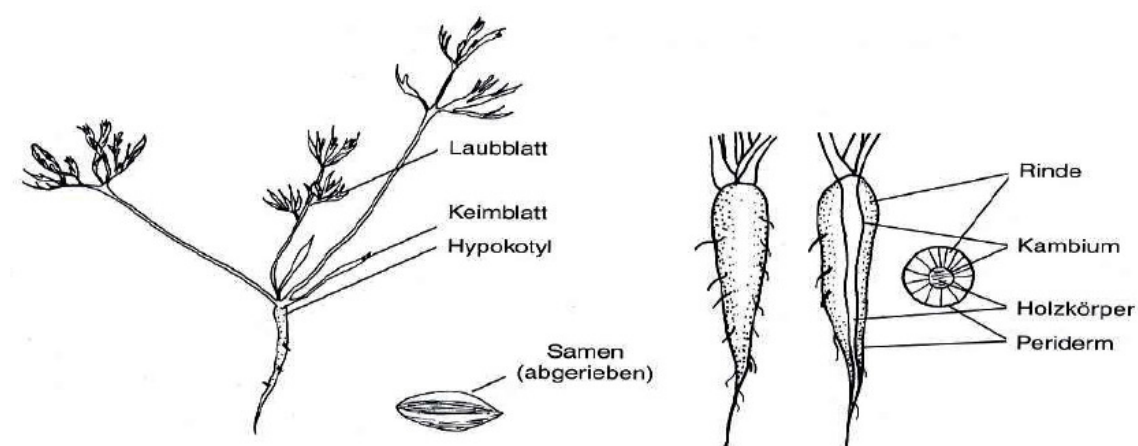


Abbildung 1-3-1: Morphologische Entwicklung der Möhre (*Daucus carota* L.) nach Keller et al., 1999 [Keller et al., 1999]

Im Europa der Gegenwart werden fast ausschließlich orangefarbene Karotten angebaut, während die vier anderen Farbtypen in Europa fast vollständig in Vergessenheit geraten sind und bei den Verbrauchern als Exoten gelten. In den letzten Jahren sind die farbigen Karotten jedoch dabei, aufgrund ihrer gesundheitsfördernden Eigenschaften und ihres farblichen Neuerungswertes wieder stärker in das Bewusstsein der Verbraucher zu rücken.

Historisch gesehen sind orangene Karotten sehr junge Züchtungen und erst seit ca. 400 Jahren bekannt. Es wird vermutet, da die orangene Karottenzüchtung ihren Ursprung in den Niederlanden hat, dass holländische Züchter diese zu Ehren ihres Könighauses (Oranje) züchteten. Gelbe und violette Karotten hingegen sind sehr alte Erscheinungsformen und wurden schon im 10. Jahrhundert in Afghanistan domestiziert und werden seitdem in Asien und Europa kultiviert. Im 17. Jahrhundert traten zum ersten Mal orangene und weiße Karottentypen in Europa auf und wurden von dort aus nach Nordamerika und Japan gebracht. Rote Karotten haben im Gegensatz zu den violetten, weißen, gelben und orangenen Karotten ihren züchterischen Ursprung in China und Indien; sie wurden dort etwa im 18. Jahrhundert gezüchtet und seitdem als Nahrungsmittel konsumiert [Simon, 2000].

Die Kultivierung, Züchtung wie auch der Konsum der orangenen Karotten sind seit deren Auftreten in Europa vorherrschend. Sie sind damit fast der einzige Karottentyp, der in unseren Regionen angebaut wird. Aus diesem Grund ist wenig über die Anbaueigenschaften der gelben, violetten sowie der weißen Karotten und ihre Eignung für die Nutzung in unseren Klimaten (Zentraleuropa) bekannt. Der potenziell hohe Nährwert und Gesundheitswert der gelben und violetten Karotten haben in den letzten Jahren das Interesse an diesen Sorten geweckt. Dabei fiel auf, dass nur sehr wenige Informationen über diese Möhrensorten vorhanden sind. Studien über gelbe oder violette Karotten bezogen sich meistens auf einen oder wenige Genotypen, jedoch nicht auf das Gesamtspektrum dieser Möhren. Die Ergebnisse der Studien geben Anlass zu der Annahme, dass sowohl gelbe als auch violette Möhren einen hohen Nährwert und einen positiven Einfluss auf die menschliche Gesundheit haben. Violette Karotten besitzen hohe Gehalte sowohl an Phenolen als auch an  $\beta$ -Carotin und übertreffen hinsichtlich dieser Komponenten die Gehalte der orangenen Karotten [Alasalvar et al., 2001; Nicolle et al., 2004]. Überdies wurde festgestellt, dass sie gegenüber den orangenen Karotten das dreifache antioxidative Potenzial, bezogen auf die Kapazität, Sauerstoffradikale zu adsorbieren, aufwiesen [Alasalvar et al., 2005].

Bei gelben Karotten stellte sich heraus, dass diese den höchsten Gehalt an Lutein haben. Rote Karotten hingegen weisen die höchsten Gehalte an Lycopin auf. Lycopin tritt bei fast allen anderen farbigen Karotten nicht auf [Surles et al., 2004]. Alasalvar et al. zeigten 2001, dass in weißen Karotten die höchste Konzentration an flüchtigen Aromastoffen nachweisbar



ist. Somit sind auch weiße und rote Karotten, in Bezug auf ihr gesundheitsförderndes Potenzial, von großem Interesse [Alasalvar et al., 2001].

Neben dem Gehalt an gesundheitsfördernden Inhaltsstoffen unterscheiden sich die verschiedenfarbigen Karotten untereinander in der Zusammensetzung der Zucker, deren Gehalte sowie hinsichtlich des Profils flüchtiger Aromakomponenten. In einer Studie, durchgeführt in den USA, stellte sich heraus, dass die unterschiedlichen Farben durchaus von den Verbrauchern akzeptiert werden, wenn die Entscheidungen auf visuellen Reizen beruhen [Surles et al., 2004]. Ferner konnte festgestellt werden, dass weiße und violette Karotten einen süßeren Eindruck als die orangenen Möhren hinterließen. Dies wurde mit einem geringeren Gehalt an Terpenoiden erklärt, die den Süßeindruck maskieren [Simon et al., 1980(a); Surles et al., 2004].

### 1.3.2 Inhaltsstoffe von *Daucus carota* L.

Die Kulturmöhre (*Daucus carota* L.) besteht zu ca. 88 % aus Wasser, zu ca. 5 % aus löslichen Kohlehydraten, zu ca. 4 % aus Ballaststoffen und zu jeweils ca. 1 % aus Proteinen und Mineralstoffen. Bei den löslichen Kohlenhydraten handelt es sich vor allem um das Disaccharid Saccharose, die beiden Monosaccharide Glucose und Fructose sowie einen sehr geringen Gehalt an Stärke [Souci et al., 2000] (Tabelle: 1-3-1).

Als besonders hervorzuheben in orangenen Kulturmöhren ist der hohe Gehalt an  $\beta$ -Carotin, welches als Provitamin A für den menschlichen Organismus lebensnotwendig ist. Der tägliche Bedarf an Provitamin A liegt zwischen 0,8 und 1,1 mg.

Tabelle 1-3-1: Inhaltsstoffe der orangenen Kulturmöhre in 100 g essbarem Anteil nach Souci et al., 2000 [Souci et al., 2000]

Inhaltsstoffe	Gehalt pro 100 g verzehrbarer Anteil (g)
Wasser	88,20
Lösliche Kohlenhydrate	4,80
Ballaststoffe	3,68
Proteine	0,98
Mineralstoffe	0,86
Organische Säuren	0,26
Lipide	0,20
$\beta$ -Carotin	0,0076

## 2 Stand der Forschung

### 2.1 Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe

Unter dem Begriff der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe (SPI) werden verschiedene Stoffklassen zusammengefasst, welche ausschließlich in Pflanzen vorkommen. Nach der Definition von Richter aus dem Jahre 1996 sind sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe Stoffe, welche nicht im primären Stoffwechsel gebildet und verbraucht werden [Richter et al., 1996] (Abbildung 2-1-1). Im Gegensatz zum Primärstoffwechsel, welcher in nahezu allen Zellen abläuft, findet der sekundäre Stoffwechsel nur in ganz bestimmten Zellen statt. Somit sind auch die SPI nur in bestimmten Teilen der Pflanze lokalisiert, wohingegen die primären Stoffwechselprodukte in fast allen Zellen anzutreffen sind. Da SPI aus den primären Inhaltsstoffen synthetisiert werden, sind sie größtenteils komplexer aufgebaut als die primären Inhaltsstoffe. Gegenwärtig wird die Zahl der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe auf 60.000 bis 100.000 geschätzt [Watzl und Leitzmann, 1995]. Identifiziert werden konnten bisher, dank moderner LC und GC-Methoden, ca. 30.000 Strukturen von SPIs, wobei etwa 10.000 von ihnen in für den Menschen verwertbaren Lebensmitteln vorkommen. Hierbei handelt es sich um Obst, Gemüse, Salate, Getreide, Hülsenfrüchte, Nüsse, Samen und Kräuter.

Innerhalb der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe kann zwischen neun Gruppen unterschieden werden, für die Hinweise auf verschiedene Wirkungen vorliegen (Tabelle 2-1-1). Diese umfassen Carotinoide, Phytosterine, Saponine, Glucosinolate, Polyphenole, Protease-Inhibitoren, Terpene, Phytoöstrogene und Sulfide. Auffällig bei den SPIs ist die Verteilung einiger von ihnen auf ganz bestimmte Pflanzenarten. Zwar haben die sekundären Pflanzeninhaltsstoffe nur einen zu vernachlässigenden Nährwert, sie sind jedoch genau wie Vitamine, Mineral- und Ballaststoffe sehr wichtig für die menschliche Gesundheit. Bei einer ausgewogenen Ernährung liegt die tägliche Aufnahme an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen bei ca. 1,5 g, bei einer rein pflanzlichen Ernährung liegt sie deutlich darüber [Watzl und Leitzmann, 1995].

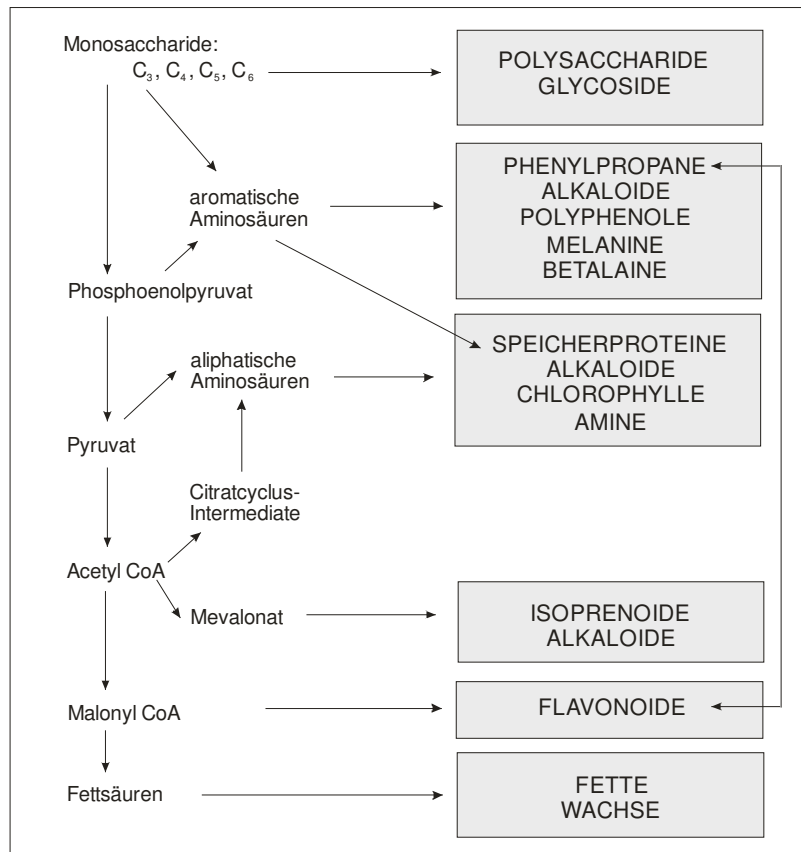


Abbildung 2-1-1: Ableitung der sekundären Pflanzenstoffe aus dem Primärstoffwechsel nach Schopfer und Brennicke, 2006 [Schopfer und Brennicke, 2006]

Die genaue Bedeutung der einzelnen sekundären Pflanzeninhaltsstoffe in den Pflanzen ist in vielen Fällen noch nicht erforscht, es wird jedoch versucht, Erklärungsansätze zu finden. Die physiologischen Bedeutungen der SPI sind vielfältig. Sie fungieren als Coenzyme und Cosubstrate, als Speicherstoffe von Stickstoff, zusätzlich nehmen sie eine wichtige Rolle bei der Fotosynthese und beim Ionentransport ein und beeinflussen außerdem die Bildung, Aktivierung und den Abbau von Pflanzenhormonen. Weitere Funktionen der SPI sind die Abwehr von Fressfeinden durch z. B. den Aufbau von Lignin, bakteriziden, toxischen oder hormonellen Wirkprinzipien. Des Weiteren gibt es Hinweise auf eine Art Kommunikation mittels flüchtiger Inhaltsstoffe zwischen einzelnen Pflanzen einer Kultur durch SPIs. Die für den Menschen am deutlichsten erkennbare Funktion der SPI ist die Ausbildung optischer und olfaktorischer Merkmale der Pflanzen wie Blütenfarben und Blütendüfte, welche auf Vögel und andere Tiere eine Reizwirkung zur Verbreitung der Samen ausüben sollen [Richter et al., 1996].

Tabelle 2-1-1: Sekundäre Inhaltsstoffe in Pflanzen und ihre Wirkungen nach Watzl und Leitzmann, 1995 [Watzl und

Leitzmann, 1995]

A = antikanzerogen

B = antimikrobiell

C = antioxidativ

D = anti thrombotisch

E = immunmodulierend

F = entzündungshemmend

G = Blutdruck-regulierend

H = Cholesterin-senkend

I = Blutglucose-regulierend

J = verdauungsfördernd

Hinweis für folgende Wirkungen										
Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Carotinoide	x		x		x					
Phytosterine	x							x		
Saponine	x	x			x			x		
Glucosinolate	x	x						x		
Polyphenole	x	x	x	x	x	x	x		x	
Protease-Inhibitoren	x		x						x	
Terpene	x									
Phytoöstrogene	x		x							
Sulfide	x	x	x	x	x	x	x	x		x

## 2.2 Carotinoide

### 2.2.1 Carotinoide – Vorkommen und Chemie

Carotinoide sind Polyenwasserstoffe, die aus acht Isopreneinheiten ( $C_5$ ) aufgebaut sind und somit zur Gruppe der Tetraterpene gehören [Belitz und Grosch, 1992]. Tetraterpene haben somit ein Kohlenstoffgrundgerüst von 40 Kohlenstoffeinheiten ( $C_{40}$ -Isoprenoide) (Abbildung 2-2-6). Ferner dienen Carotinoide als Pigmente, welche in einigen Mikroorganismen und höheren Pflanzen synthetisiert werden. Zurzeit sind etwa 700 Carotinoide bekannt [Isler, 1971]. An den Enden der Tetraterpene können sich zyklische Gruppen befinden, welche um sauerstoffhaltige funktionelle Gruppen erweitert sein können (Abbildung 2-2-1). Zur besseren Klassifizierung wird die Stoffgruppe der Carotinoide in zwei Untergruppen unterteilt. Hierbei handelt es sich um die Stoffgruppe der Carotine, welche ausschließlich aus Kohlenwasserstoffmolekülen besteht, und die Stoffgruppe der Xanthophylle [Isler, 1971], welche mindestens ein weiteres Sauerstoffmolekül enthalten. Bei den Sauerstoffmolekülen der Xanthophylle handelt es sich um Alkohol-, Keto-, Aldehyd-, Epoxy- oder Ethergruppierungen. Neben diesen funktionellen Gruppen treten einige Hydroxycarotinoide auch in Veresterung mit Fettsäuren auf [Nau und Stahl, 2007]. Im Gegensatz zu den Carotinen sind die Xanthophylle, durch ein oder mehrere Sauerstoffatome, weniger lipophil. Diese Lipophilie beeinflusst in erheblichem Maße ihre Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln [Britton, 1995]. Formal leiten sich alle Carotinoide von Lycopin, einer acyclischen Verbindung mit der Summenformel  $C_{40}H_{56}$ , ab (Abbildung 2-2-2 und Abbildung 2-2-7). Lycopin ist ein rotes Pigment und kommt hauptsächlich in roten Karotten vor

[Buishand und Gabelman, 1980; Surles et al., 2004]. Alle weiteren Carotinoide werden durch zusätzliche Hybridisierung, Dehydrierung, Cyclisierung (durch Cyclasen) oder den Einbau von Hydroxyl-, Carbonyl-, Epoxy- oder anderen funktionellen Gruppen gebildet.

In den höheren Pflanzen sind Carotinoide vor allem im Gewebe und in den Blättern und dort in den für die Fotosynthese verantwortlichen Chloroplasten lokalisiert. In Früchten und alternden Blättern treten sie dagegen in den Chromoplasten auf. Carotinoide können entweder frei, verestert oder in kovalenten Komplexen mit Proteinen vorliegen. Durch die Vielzahl an konjugierten Doppelbindungen und die damit verbundene Absorption von bestimmten Anteilen des sichtbaren Lichts erscheinen Carotinoide farbig. Zumeist erscheinen sie als gelb, orange oder rot. Dementsprechend sind Carotinoide auch überwiegend in orangen, gelben oder roten Obst- oder Gemüsesorten zu finden. In grünblättrigem Gemüse wird das Farbspektrum der Carotinoide durch das Chlorophyll überdeckt. Diese Gemüsesorten enthalten vor allem Xanthophyll.

Die zwei wichtigsten cyclischen Carotinoide in der Karotte sind  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin (Abbildung 2-2-3 und 2-2-4). Diese besitzen beide zwei endständige Ionon-Ringe, welche durch eine olefinische Kette miteinander verbunden sind.  $\beta$ -Carotin ist im Gegensatz zum  $\alpha$ -Carotin ein zentrosymmetrisches Molekül mit zwei  $\beta$ -Ionon-Ringen als Endgruppen.  $\alpha$ -Carotin hingegen besitzt einen  $\beta$ - und einen  $\epsilon$ -Ionon-Ring. Überdies existieren, neben den Carotinoiden in der alltrans-(all-E-) Konfiguration mit olefinischen Ketten, mehrere geometrische Isomere mit einer oder mehreren z-(cis-) Anordnungen, welche unter Licht-, Sauerstoff- und Wärmeeinfluss gebildet werden [Lienau, 2003].

Das zentrosymmetrisch aufgebaute Zeaxanthin besitzt hingegen zwei sterisch bevorzugte Isomere in Position 9 und 13. Lutein dagegen hat, aufgrund seiner unterschiedlichen endständigen Ionon-Ringe, die doppelte Anzahl an Z-Isomeren, welche als 9-Z, 13-Z, 9'-Z und 13'-Z-Lutein bezeichnet werden [Lienau, 2003]. Für Carotinoide mit höherer Tendenz zur Isomerisierung sind Z-Isomere und ZZ- bzw. ZZZ-Isomere in anderen Positionen beschrieben [Zechmeister, 1962]. Da viele Carotinoide ein oder mehrere stereogene Zentren besitzen, treten neben den geometrischen Isomeren auch optische Isomere auf. So besitzt Lutein mit seinen drei stereogenen Zentren noch acht optische Isomere, das 3R-, das 3'R- und das 6'R-Lutein [Lienau, 2003].

Die in den Karotten auftretenden Carotinoide  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin sind Provitamine für das Vitamin A, Retinol. In den Karottenwurzeln induzieren sie die typische orangene Farbe und kommen, abhängig von Genotyp und Anbauort, in Gehalten von 90-160 mg/kg vor [Simon, 2000; Simon und Wolff, 1987]. Orangene Karottenwurzeln sind besonders reich an  $\beta$ -Carotin

und sind somit eine der Hauptquellen für dieses weltweit [Simon, 1990]. Für die ausgewogene menschliche Ernährung sind vor allem die Provitamin-A-aktiven Carotinoide von großer Bedeutung. Von diesen sind rund 50 bekannt und für den Menschen essenziell [Isler, 1971]. Hierbei ist der besondere Einfluss auf den Sehprozess zu nennen, durch den das Risiko gesenkt wird, verfrüht an altersbedingter Makuladegeneration (AMD) zu leiden, was unmittelbar mit einem Verlust der zentralen Sehschärfe verbunden ist. Durch die Aufnahme der Xanthophylle Lutein und Zeaxanthin kann der Prozess der AMD verlangsamt werden.

Neben  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin können noch weitere Vertreter aus der Stoffgruppe der Carotinoide durch intramolekulare Spaltung in Vitamin A (Retinol) überführt werden [Hahn et al., 2005]. Diese Carotinoide werden auch als Provitamin A oder Provitamin A-Verbindungen bezeichnet. Alle Provitamine besitzen einen  $\beta$ -Iononring in ihrer Struktur. Von allen Provitamin-A-aktiven Carotinoiden besitzt  $\beta$ -Carotin die höchste Provitamin-A-Aktivität.

Zusätzlich zu den orange gefärbten Karotten enthalten auch die violetten Karotten hohe Gehalte an  $\beta$ -Carotin. Sie sind zum Teil sogar höher als die bei orange gefärbten Karotten [Alasalvar et al., 2001]. Am äußerlichen Erscheinungsbild der Karotten ist dies jedoch nicht zu erkennen, da Anthocyane die typisch orangene Farbe der Carotinoide (die Möhren erscheinen violett/schwarz) überlagern.

Sieben griechische Buchstaben bezeichnen die sieben bekannten Endgruppen:

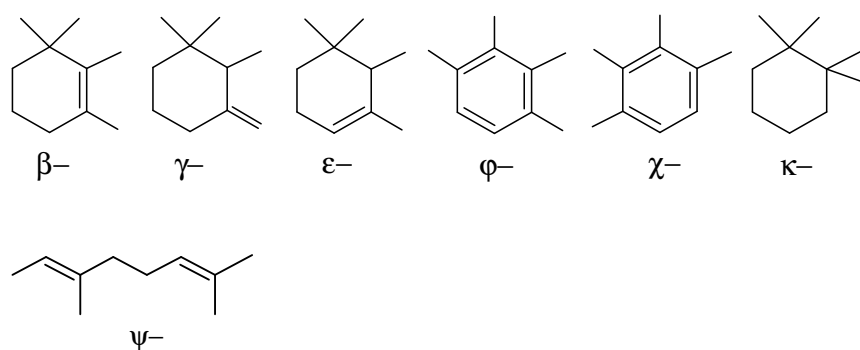


Abbildung 2-2-1: Sieben mögliche Endgruppen der Carotinoide nach Breitmaier, 2004 [Breitmaier, 2004]

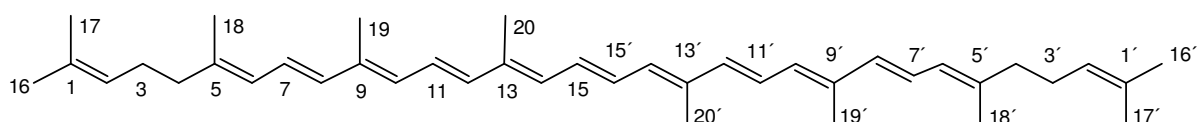


Abbildung 2-2-2:  $\psi,\psi$ -Caroten (Lycopin) nach Breitmaier, 2004 [Breitmaier, 2004]

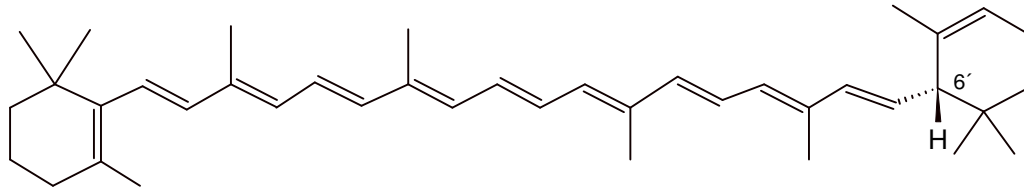


Abbildung 2-2-3: (+)-β,ε-Caroten (α-Carotin) nach Breitmaier, 2004 [Breitmaier, 2004]

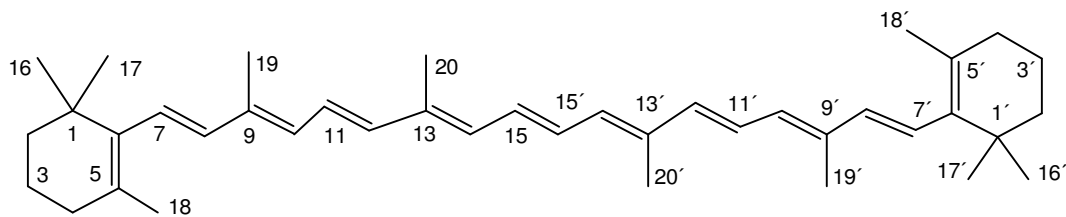


Abbildung 2-2-4: β,β-Caroten (β-Carotin) nach Breitmaier, 2004 [Breitmaier, 2004]

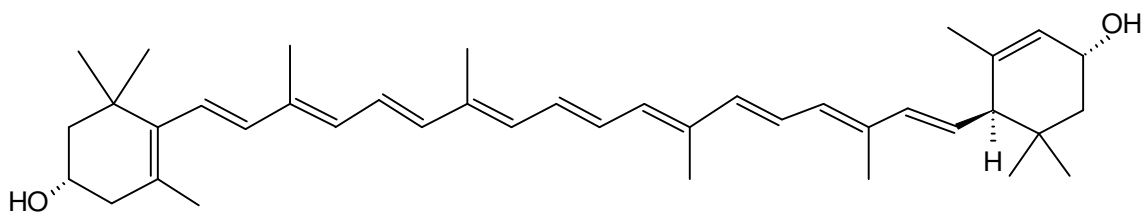


Abbildung 2-2-5: (+)-3α,3'α-Dihydroxy-β,ε-Caroten (Lutein, Xanthophyll) nach Breitmaier, 2004 [Breitmaier, 2004]

Als weitere wichtige Carotinoide in der Karotte, neben dem α- und β-Carotin, sind zwei weitere Carotinoide von großer Bedeutung. Bei diesen handelt es sich zum einen um das Lycopin (Abbildung 2-2-2) sowie das Lutein (Abbildung 2-2-5). Beide Carotinoide sind, wie α- und beta-Carotin, in der Lage Singulett-Sauerstoff zu quenchen, welches ihr antioxidatives Potenzial erklärt (Tabelle 2-2-1). Lycopin ist ein rotes Pigment, welches hauptsächlich in Tomaten vorkommt. Das antioxidative Potenzial von Lycopin ist im Vergleich zu β-Carotin doppelt so hoch. Auf den menschlichen Organismus hat Lycopin eine Reihe von positiven Einflüssen; so senkt Lycopin das Risiko hinsichtlich verschiedener Krebsarten, kardiovaskulärer Erkrankungen sowie Diabetes [Bramley, 2000; Fraser und Bramley, 2004]. In orangenen Karotten kommt Lycopin nur in Spuren vor, in rot gefärbten Karotten tritt es jedoch in signifikanten Konzentrationen auf [Buishand und Gabelman, 1980; Surles et al., 2004]. Das vierte wichtige Carotinoid in Karotten ist das Lutein, welches in den Karottenwurzeln als gelbes Farbpigment erscheint. Bei den typisch orange gefärbten Karotten ist Lutein jedoch nur in geringen Mengen vorhanden, wohingegen es in gelben Karotten in deutlich höheren Konzentrationen auftritt [Buishand und Gabelman, 1979; Nicolle et al., 2004]. In der menschlichen Retina ist Lutein das Makula-Pigment, ein Defizit

desselben führt zu altersbedingten Makuladegenerationen und Arteriosklerose [Landrum und Bone, 2001].

Tabelle 2-2-1: Antioxidatives Potenzial der Zielcarotinoide nach Sies und Stahl, 1995 [Sies und Stahl, 1995]

	Lutein	β-Carotin	α-Carotin	Lycopin	Quelle
Anzahl der konjugierten Doppelbindungen	10	11	10	11	
<u>Antioxidative Aktivität:</u>					
O <sub>2</sub> -Quenching K <sub>q</sub> (1/M*s)	16 * 10 <sup>9</sup>	13 * 10 <sup>9</sup>	?	17 * 10 <sup>9</sup>	[Di Mascio et al., 1989 ; Conn et al., 1991]
Radikalfänger (Trolox-Equivalent)	1,5	1,9	1,3	2,9	[Miller et al., 1996]

Der Gehalt an Carotinoiden innerhalb der verschiedenen Obst- und Gemüsesorten unterliegt deutlichen Schwankungen. Sie werden durch die Einflussfaktoren Standort, Reifegrad und Sorte bedingt. Außerdem ist der Gehalt an Carotinoiden von Genotyp zu Genotyp unterschiedlich [Simon, 2000; Simon und Wolff, 1987]. Es wird jedoch aus der Tabelle 2-2-2 ersichtlich, dass der Carotinoidgehalt in Gemüse im Verhältnis zum Gehalt in Obst deutlich höher ist. Da der menschliche und tierische Organismus nicht in der Lage ist Carotinoide zu synthetisieren, sondern allenfalls die Umwandlung mit der Nahrung aufgenommener Carotinoide bewerkstelligt, sind sie essenziell [Meyer, 2002].



Tabelle 2-2-2: Carotinoidgehalte einiger Obst- und Gemüsesorten in mg/100 g FM nach Mangels et al., 1993 [Mangels et al., 1993]

	$\beta$ -Carotin	$\alpha$ -Carotin	Lutein und Zeaxanthin	Lycopin
<u>Gemüse</u>				
Brokkoli	0,5 - 1,1	0,1	1,8 - 2,1	
Rosenkohl	0,3 - 1,1	0,1	0,9 - 1,6	
Karotte	1,8 - 14,7	0,5 - 8,5	0,3	
Bohne (grün)	0,2 - 0,8	0,1	0,4 - 1,1	
Kohl	2,8 - 14,6		14,7 - 39,6	
Kopfsalat	1,0 - 1,5		1,8	
Erbsen (grün)	0,1 - 0,3	0,1	1,1 - 2,4	
Spinat	3,0 - 6,7		4,4 - 15,9	
Paprika (grün)	0,1 - 0,3	0,1	0,7	
Tomate	0,1 - 0,7		0,7	0,9 - 4,2
<u>Obst</u>				
Aprikose	0,6 - 6,4			
Orange	0 - 0,5	0,1	0,1	
Pfirsich	0,1 - 0,4	0,1	0,1	
Mango	0,1 - 3,7			
Wassermelone	0,2			2,3 - 7,2
Guave	0,4 - 1,2			5,3 - 5,5
Grapefruit (rot)	0,3 - 2,3			3,4

### 2.2.2 Biochemie und Biosynthese der Carotinoide

Carotinoide sind in ihrer Grundstruktur aus 40 Kohlenstoff-Atomen aufgebaut und entstehen formal durch Aneinanderfügen von acht C<sub>5</sub>-Isopren-Einheiten im Rahmen des Terpenoidstammbaums. Eine stark vereinfachte Darstellung der Biosynthese der Carotinoide ist in der Abbildung 2-2-6 und 2-2-7 aufgeführt.

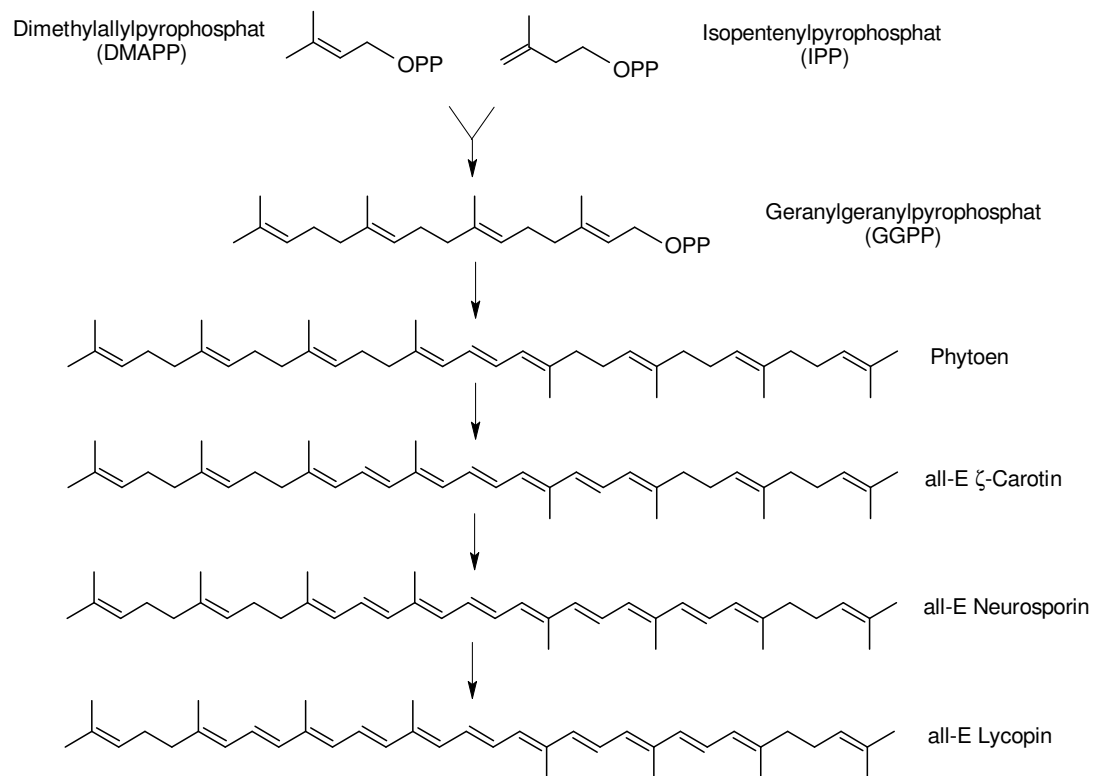


Abbildung 2-2-6: Vereinfachte Darstellung der Carotinoidbiosynthese nach Lienau, 2003 [Lienau, 2003]

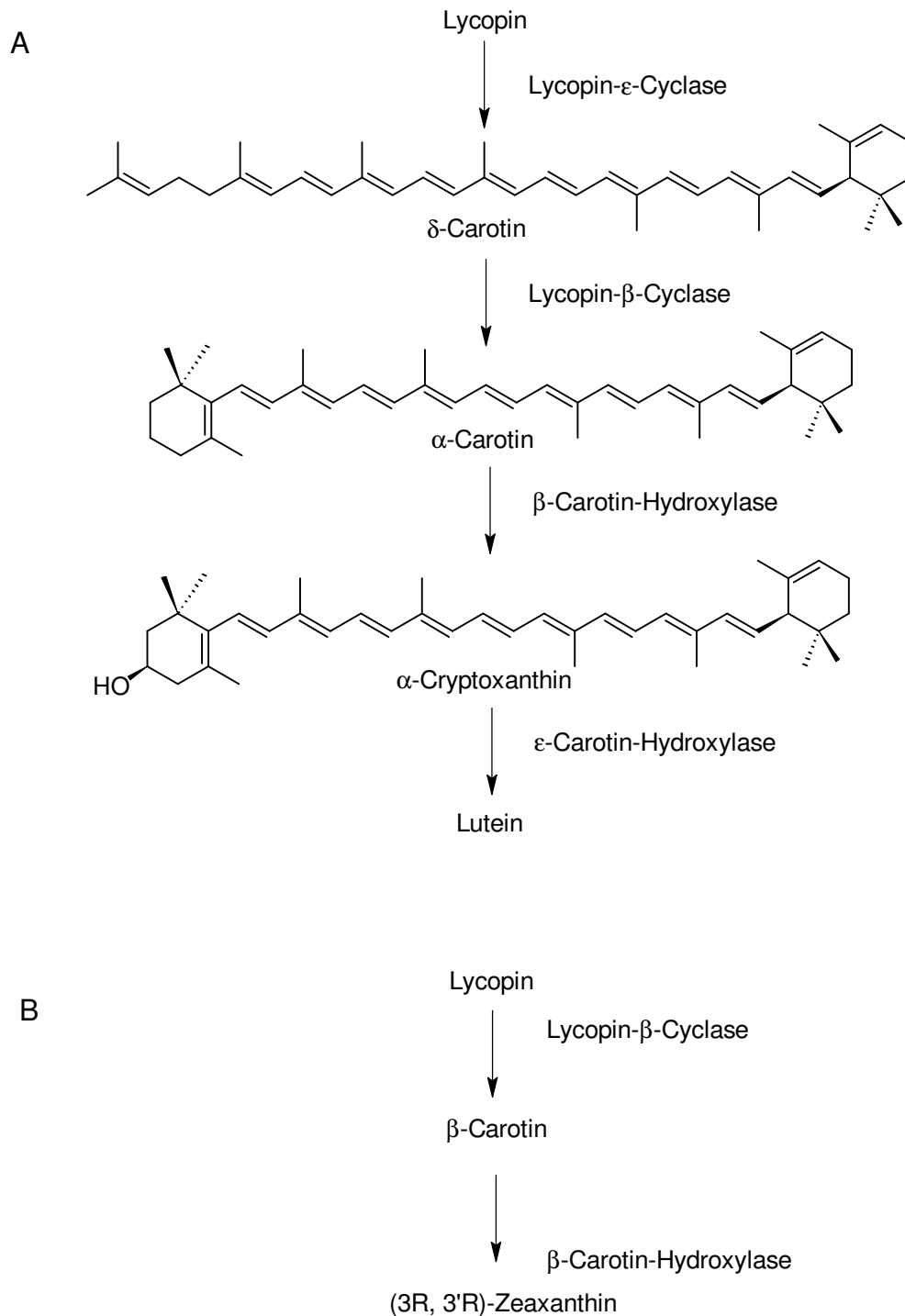
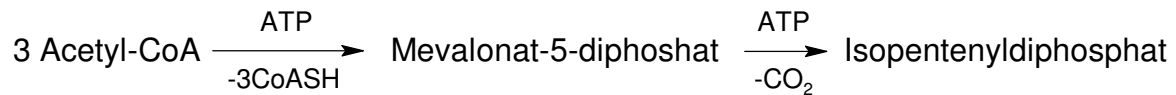


Abbildung 2-2-7: Vereinfachter Biosyntheseweg der Carotinoide A: Der Xanthophylle; B: Der Carotine nach Meyer, 2002 [Meyer, 2002]

Zu den Terpenen werden insgesamt 35.000 bekannte Vertreter gezählt [Rohdich et al., 2004]. Allen Terpenen gemeinsam ist ihr Grundgerüst, welches sich aus Isoprenbausteinen ( $C_5H_8$ ) zusammensetzt. Die Biosynthese aller Terpene geht vom Isopentenylidiphosphat bzw. dem isomeren Dimethylallyldiphosphat aus, welches aus 3 Acetyl-CoA über den Mevalonatweg gebildet wird (Formel 2-2-1). Für dieses „aktive Isopren“ gibt es innerhalb der

Pflanzen zwei verschiedene Synthesewege. Der erste Syntheseweg findet im Cytoplasma statt und verläuft nach dem klassischen Mevalonatweg, welcher aus sechs Schritten besteht und ebenfalls bei der Hefe und in der Säugerleber vorkommt.



Formel 2-2-1: Bildung des Isopentenylidiphosphats aus 3 Acetyl-CoA über den Mevalonatweg nach Schopfer und Brennicke, 2006 [Schopfer und Brennicke, 2006]

Innerhalb des Cytoplasmas entstehen im Zuge häufiger Verknüpfungen von C<sub>5</sub>-Einheiten Sesquiterpene (C<sub>15</sub>) und Triterpene (C<sub>30</sub>) [Schopfer und Brennicke 2006].

Der zweite Syntheseweg für das Isopren ist im Plastidenkompartiment lokalisiert. Es handelt sich bei diesem Syntheseweg um einen konservierten prokaryontischen Syntheseweg. Die Synthese des Isoprenengerüsts verläuft bei diesem Weg in sieben Schritten, ausgehend vom Pyruvat und Glycerinaldehyddiphosphat über das Zwischenprodukt Desoxyxylulosephosphat. Dieser Syntheseweg wird auch als Methylerythriolphosphatweg bezeichnet.

Durch den Methylerythriolphosphatweg werden in der Pflanze Mono-, Di- und Tetraterpene gebildet. Durch die Verknüpfung von vier C<sub>5</sub>-Einheiten über eine „Kopf-Schwanz“-Verknüpfung mittels Prenyltransferasen entsteht Geranylgeranyldiphosphat, ein C<sub>20</sub>-Molekül, aus welchem durch „Kopf-Kopf“-Verknüpfung die symmetrische C<sub>40</sub>-Kette des Phytoens gebildet werden kann. Vier zusätzliche Desaturierungsschritte erzeugen die für die Carotinoide typische Färbung verantwortlichen konjugierten Doppelbindungen in den Acetylketten. Das so entstandene Lycopin wird durch nachfolgende symmetrische Cyclisierung der Kettenenden zu β-Carotin umgewandelt. β-Carotin bildet die Ausgangssubstanz für alle weiteren Carotine und Xanthophylle (die sauerstoffhaltigen Carotinoide) (Abbildung 2-2-8). Alle für die Biosynthese der Carotinoide verantwortlichen Enzyme sind im Zellkern codiert und werden posttranslatorisch aus dem Cytoplasma in die Plastiden importiert (Abbildung 2-2-9). Bei der Chloroplastenentwicklung innerhalb des jungen Blattes wird zusätzlich zur Chlorophyllsynthese auch die Carotinoidbiosynthese durch Phytochrom reguliert. Im Bereich des Pflanzenschutzes werden daher spezielle Substanzen eingesetzt, welche die Phytoendesaturierung, das bedeutet die Bildung von gefärbten Carotinoiden, vollständig hemmen. Durch den Einsatz, solcher Herbizide fehlen den Pflanzen die als Lichtschutzpigmente notwendigen Carotinoide. Folge ist die fotooxidative Zerstörung der Thylakoide, welches zum Ausbleichen und anschließend zum Lichttod der

Blätter führt. Die lichtschützende Wirkung der Carotinoide ist auf die grünen Pflanzenteile beschränkt:

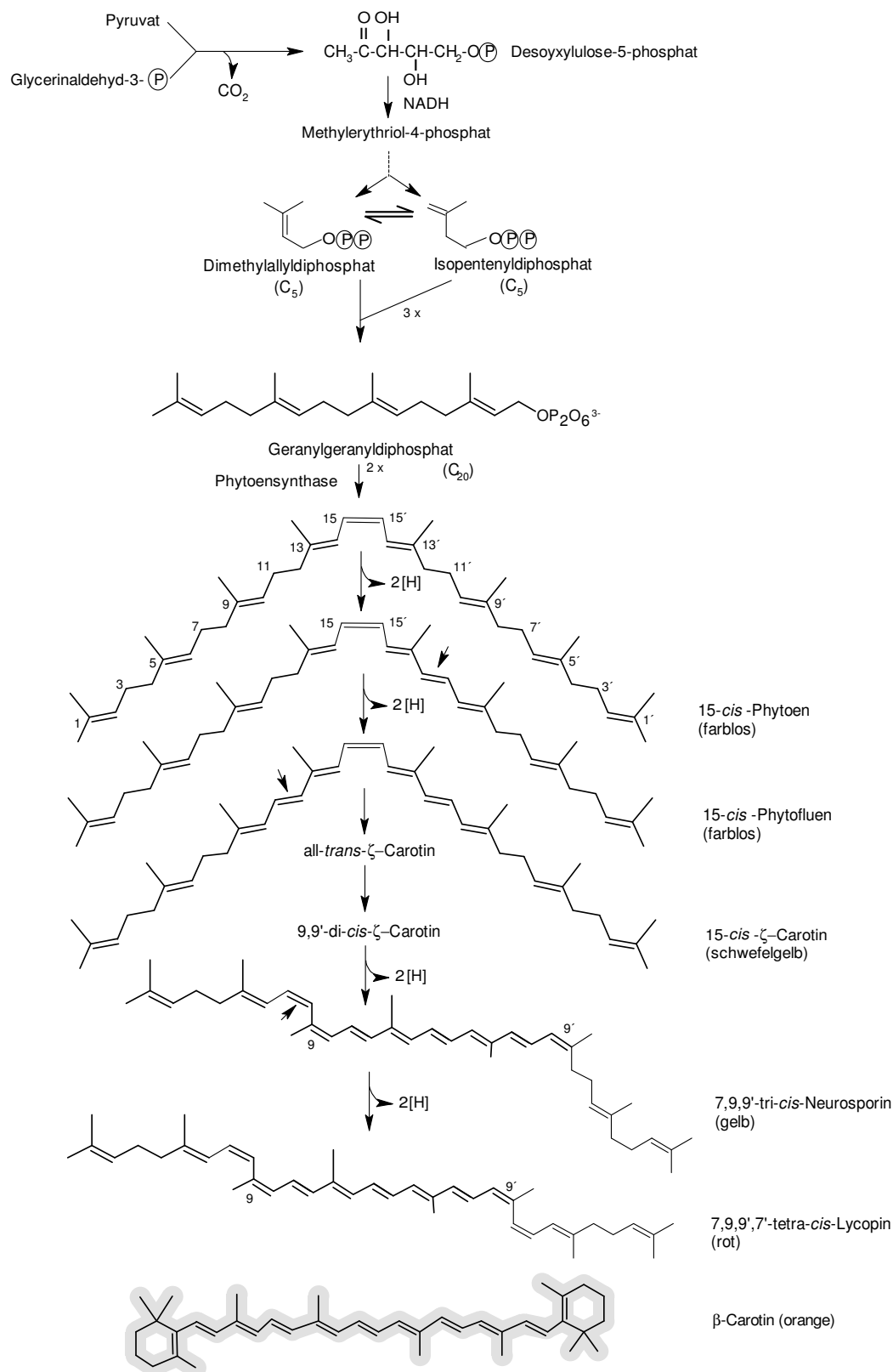


Abbildung 2-2-8: Biosynthese der Carotinoide über den plastidären Methylerythriolphosphatweg (vereinfacht) nach Schopfer und Brennicke, 2006 [Schopfer und Brennicke, 2006]

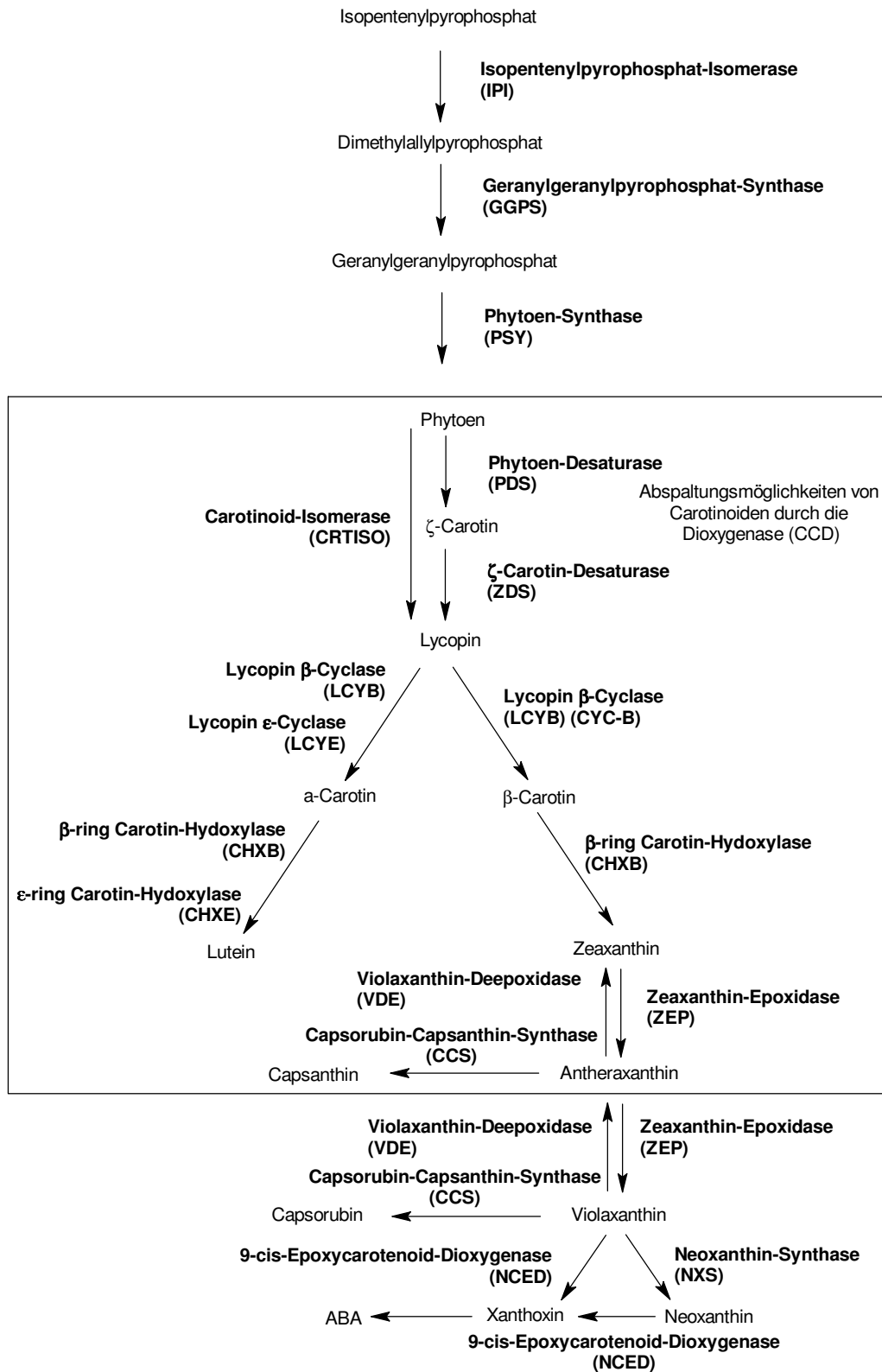


Abbildung 2-2-9: Vereinfachtes Schema des Carotinoid-Biosyntheseweges mit den beteiligten Enzymen und Hauptprodukten nach Just et al., 2007 [Just et al., 2007]

### 2.2.3 Bedeutung der Carotinoide

In der Natur sind zurzeit mehrere hundert verschiedene Carotinoide bekannt [Watzl und Bub, 2001]. Diese kommen vorwiegend in den Blättern von Pflanzen vor, in welchen sie jedoch für das menschliche Auge nicht in ihrer typisch orange-roten Farbe sichtbar sind, da sie vom Chlorophyll überdeckt werden [Britton, 1995]. In den Blättern kommen sie mit den Chloroplasten assoziiert vor und haben dort die Aufgabe, diese vor oxidativem Abbau zu schützen. Vielfach treten die Carotinoide auch gut sichtbar in Samen, Pollen und in den Früchten von Obst und Gemüse auf. In diesen werden sie nicht vom Chlorophyll überdeckt und sind damit für die entsprechenden Farben verantwortlich. Ein gutes Beispiel sind die tief orange gefärbten Karotten ( $\beta$ -Carotin) sowie die roten Tomaten (Lycopin). Die Carotine treten vor allem in Gemüse und Obst auf [Watzl und Bub, 2001]. Die Xanthophylle (Zeaxanthin und Lutein) finden sich dagegen in dunkelgrünen Blattgemüsen wieder. Innerhalb der nicht grünen Pflanzenteile nehmen die Carotinoide die Funktion von Signalstoffen für Tiere ein, welche wiederum die Pollen und Samen der jeweiligen Pflanzen verbreiten sollen. Wahrgenommen werden die Signalstoffe durch den Photorezeptor, das Rhodopsin in den Augen der Tiere. Das Chromophor des Rhodopsin, das Retinal, entsteht durch die Spaltung der zentralen Doppelbindung von Carotin [Schopfer und Brennicke, 2006].

### 2.2.4 Konzentrationen der Carotinoide in der Karotte

Als Hauptcarotinoide in Karotten werden in der Literatur  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin sowie Lutein genannt. Lycopin ist ausschließlich in den roten Karotten zu finden und somit für den europäischen Markt, für welchen diese Sorten nur in sehr geringen Mengen angebaut werden, nicht von unmittelbarem Interesse. Die Konzentrationsbereiche für diese „Schlüsselcarotinoide“ liegen für Lutein zwischen 0,11 und 0,56 mg/100 g Frischmasse (FM), für  $\alpha$ -Carotin zwischen 0,11 und 0,56 mg/100 g FM und für das  $\beta$ -Carotin zwischen 4,6 und 10,3 mg/100 g FM. Bei diesen Werten ist zu beachten, dass die Gehalte je nach Analysemethoden basierend auf Frischmasse, Möhrensaft oder gefriergetrocknetem Material ermittelt wurden. Überdies wird zwischen großen und kleinen Möhren, Pflanzenalter und Erntetermin unterschieden. Somit ist die Vergleichbarkeit der Analyseergebnisse nur begrenzt möglich [Habegger und Schnitzler, 2005; Schuphan, 1976; Fritz und Habben, 1977; Bajaj et al., 1980; Evers, 1989; Heinonen, 1990; Müller, 1997].

### 2.2.5 Carotinoidverteilung innerhalb der Karotte

Im Jahre 2006 wurde von Baranska et al. eine Studie über die Verteilung und die Konzentration von Carotinoiden in Karotten durchgeführt. Hierbei lag das Augenmerk auf  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin sowie Lutein und Lycopin. Es stellte sich heraus, dass der Gehalt an  $\beta$ -Carotin heterogen in orangenen, gelben, roten und violetten Karotten verteilt war. Im sekundären Phloem stieg der Gehalt allmählich vom Periderm zum Kern, nahm jedoch schnell wieder ab in Zellen nahe dem vaskulären Kambium.  $\alpha$ -Carotin und Lutein waren in höheren Konzentrationen als  $\beta$ -Carotin in jüngeren Zellen zu finden, während Lycopin bei roten Karotten mit gleichbleibendem Gehalt im Bereich des sekundären Phloems zu finden war [Baranska et al., 2006].

### 2.2.6 Einflussfaktoren auf den Carotinoidgehalt in Karotten

Die Höhe des Carotinoidgehalts in der Karotte hängt neben endogenen Faktoren, der genetischen Veranlagung, welche sich durch die Wahl der Sorte beeinflussen lässt, auch von exogenen Faktoren ab. Bei den endogenen Faktoren ist neben der genetischen Veranlagung vor allem der Reifegrad der ausgebildeten Speicherwurzel von entscheidender Bedeutung. Während der Reife des Möhrenkörpers nimmt der Carotinoidgehalt in diesem zu [Roux, 1965; Habben, 1972; Baranska et al., 2006]. Bei den exogenen Faktoren haben die Umweltfaktoren Temperatur, Bodenbeschaffenheit und Standort, die verfügbare Wassermenge im Boden sowie das Niederschlagsvolumen während des Wachstumsprozesses einen großen Einfluss auf das Wachstum der Pflanze und damit auf die Höhe des Carotinoidgehalts. So fördern hohe Temperaturen und geringe Wasserverfügbarkeiten die Reife der Karottenwurzel und damit auch die Bildung von Carotinoiden, während hohe Wasserverfügbarkeiten und niedrige Temperaturen die Reife behindern und somit auch den Carotinoidgehalt negativ beeinflussen [Roux, 1965].

Im Folgenden wird auf die Einflussfaktoren Sorte, Reife, Standort, Düngung und Schädlingsbefall bzw. Schädlingsbekämpfung, welche einen deutlichen Einfluss auf den Carotinoidgehalt in Karotten haben, genauer eingegangen.

#### 2.2.6.1 Sorte

Der Einflussfaktor „Sorte“ auf den Carotinoidgehalt ist deutlich; so untersuchten Simon und Wolff 1987 die genetische Variabilität von Carotinoiden in orangenen Karotten. Sie fanden heraus, dass es eine große genetische Spannweite allein in den orangenen Karotten, also



den Karotten, die durch den Menschen dem höchsten züchterischen Einfluss unterliegen, gibt. Der Carotinoidgehalt schwankte von 41 µg bis 475 µg pro g Frischmasse. Innerhalb der Carotinoide waren die Provitamin-A-aktiven Carotinoide, also α- und β-Carotin, mengenmäßig am häufigsten vertreten. Neben ihnen war noch das Xanthophyll Lutein zu finden [Simon und Wolff, 1987]. Heinonen untersuchte 1990 in einem groß angelegten Vergleich neunzehn orangene Karotten an vier Standorten. Er fand heraus, dass die Variation zwischen den unterschiedlichen Zusammensetzungen für Lutein in Bereichen von 1,2 % bis 5 %, für α-Carotin von 27 % bis 42 % und für β-Carotin von 56 % bis 71 %, bezogen auf die Gesamtkonzentration dieser drei Carotinoide, schwankte [Heinonen, 1990]. Im Zuge einer weiteren Studie zur genetischen Variation wurden sechs eng verwandte Karottensorten des Nantes-Typs miteinander verglichen. Es stellte sich heraus, dass die Unterschiede der Carotinoidkonzentrationen gering waren [Kidmose et al., 2004].

#### 2.2.6.2 Reife

Der Reifegrad, welcher nach Roux das Ergebnis des Wirkens aller Umweltfaktoren ist, hat in der Pflanze, speziell der Karottenwurzel, neben der genetischen Varianz einen erheblichen Einfluss auf die Carotinoidkonzentration und das Carotinoidmuster in selbiger [Booth und Dark, 1949; Roux, 1965; Habben, 1972; Baranska et al., 2006]. Während des Reifeprozesses steigt der Carotinoidgehalt bis zur Vollreife an, in welcher er dann sein Maximum erreicht [Banga und De Bruyn, 1964]. Das Karottenwachstum wird nach Banga und De Bruyn 1964 in das Längen- und das Dickenwachstum unterteilt, wobei das Letztere dem Reifungsprozess zugeordnet wird. In Abhängigkeit von der Temperatur soll das Gleichgewicht des Karottenstoffwechsels bei unter 20 °C zugunsten der Proteine und über 20 °C zugunsten der Carotinoide verschoben sein. Wenn jedoch ein exogener Faktor (Stickstoff) die Proteinbiosynthese hemmt, so werden die dadurch verfügbar gewordenen Kohlenhydrate in der Carotinoidbiosynthese verwertet [Banga und De Bruyn, 1964]. Während des Reifeprozesses nimmt der Gehalt an α-Carotin im Gegensatz zum β-Carotin ab, da das α-Carotin hauptsächlich in jungen Pflanzen vorkommt [Baranska et al., 2006]. Somit kann der Quotient von α- zu β-Carotin als vergleichender Reifeindikator genutzt werden.

#### 2.2.6.3 Standort

Dass der Standort einen großen Einfluss auf den Carotinoidgehalt hat, stellte Janes 1949 fest. Janes beobachtete, dass der Standort einen deutlich höheren Einfluss ausübt als die Düngung und postulierte, dass das Klima einen bedeutend höheren Einfluss gegenüber dem

Boden ausübt [Janes, 1946]. 1955 zeigten Banga und De Bruyn, dass bei deutlich höheren Temperaturen der Carotinoidgehalt signifikant ansteigt. Die unterschiedlichen Carotinoidkonzentrationen kamen durch die unterschiedlichen Reifegrade der unterschiedlichen Karottensorten bei der Ernte zustande. Die verschiedenen Reifegrade wurden mit dem sortenspezifischen Vermögen erklärt, unter geringen Wachstumstemperaturen Carotinoide zu synthetisieren [Banga et al., 1955]. Dieses Ergebnis wurde 1965 durch Roux bestätigt, welcher bei Karotten in heißen und trockenen Jahren hohe Carotinoidkonzentrationen fand [Roux, 1965]. Mehwald stellte dagegen ebenfalls 1965 einen signifikanten Einfluss der Bodenart auf die Carotinoidkonzentration fest und fand überdies heraus, dass weder die Sonnenscheindauer noch die Niederschlagssumme einen nachweisbaren Einfluss auf die Carotinoidkonzentrationen hat. Er stellte jedoch heraus, dass deutlich höhere Carotinoidkonzentrationen auf sandigem, lockerem Boden als auf festem, lehmigen Boden zu erwarten sind [Mehwald, 1965]. 1972 ermittelte Habben, dass den stärksten Einfluss auf den Carotinoidgehalt in Karotten vor allem der Reifezustand hat, während Boden, Witterung und Anbauzeitpunkt alle denselben Einfluss auf die Carotinoidkonzentration haben. Es wurde überdies festgestellt, dass der Carotinoidgehalt auf sandigen, leichten Böden erhöht ist [Mehwald, 1965]. Diese Erkenntnis wurde mit der Nährstoffverfügbarkeit, speziell der des Stickstoffs, erklärt. Überdies konnten die Ergebnisse von Banga und De Bruyn 1955 bestätigt werden, nach denen bei niedrigen Temperaturen mit niedrigen Carotinoidgehalten in der Karotte zu rechnen ist [Habben, 1972]. Habegger und Schnitzler stellten 2005 Unterschiede im Carotinoidgehalt im Bereich von 50 % bei unterschiedlichen Standorten sowie bei unterschiedlichen Anbau- bzw. Erntejahren fest [Habegger und Schnitzler, 2005].

#### 2.2.6.4 Düngung

1935 fanden Pfützer und Pfaff heraus, dass mit Stickstoffdüngung der Carotinoidgehalt in Karotten erhöht werden kann [Pfützer und Pfaff, 1935]. Dies Ergebnis wurde 1941 durch Pollard und 1988 durch Sandhu et al. bestätigt [Pollard, 1941; Sandhu et al., 1988]. Ein weiterer Einflussfaktor auf die Carotinoidkonzentration in Karotten, so fand Habben 1973 heraus, ist die Kaliumgabe. Mit der Kaliumgabe wurde der Carotinoidgehalt aufgrund des gesteigerten Möhrenwachstums erhöht [Habben, 1973]. Des Weiteren wurde herausgefunden, dass eine unmittelbare Korrelation zwischen Carotinoidgehalt und Karottengröße besteht. Somit wirkt die Kaliumgabe vorrangig zwar auf das Karottenwachstum, jedoch auch mittelbar auf die Carotinoidkonzentration. Eine erhöhte Chloridgebe hatte keinen unmittelbaren Einfluss auf den Carotinoidgehalt, da die Werte zwischen denen bei hohen und niedrigen Stickstoffgaben lagen [Scharrer und Burke, 1953;

Pollard, 1941]. Ein eindeutiger Einfluss auf die Carotinoidkonzentration durch die Form, in welcher die Nährstoffe vorliegen (organisch oder mineralisch), konnte nicht ermittelt werden. So lagen die Carotinoidkonzentrationen bei organischer Düngung über [Leclerc et al., 1991] und unter [Warman und Havard, 1997] den Gehalten bei mineralischer Düngung; es wurden überdies auch unbeeinflusste Carotinoidkonzentrationen festgestellt [Nilsson, 1979]. Als signifikanter Einflussfaktor auf die Carotinoidkonzentration konnte nur die Stickstoffgabe ermittelt werden.

#### 2.2.6.5 Schädlingsbefall/Schädlingsbekämpfung

Durch den Einsatz von Schädlingsbekämpfungsmitteln kann die Carotinoidkonzentration erhöht werden; dies ist auf das Fehlen von natürlichem Unkrautdruck zurückzuführen [Sweeney und Marsh, 1971]. Dieser Aussage widersprechend fanden 1975 Beckmann und Pestemer heraus, dass bei einer Gabe von Afalon, einem Herbizid, die Carotinoidkonzentrationen abnahmen, wobei sich diese mit zunehmender Düngung (NPK) noch weiter reduzierten [Beckmann und Pestemer, 1975]. Somit haben synthetische Schädlingsbekämpfungsmittel einen unspezifischen Einfluss auf die Carotinoidkonzentration. In Bezug auf die Auswirkungen auf den Carotinoidgehalt bei Schädlingsbefall stellten Booth und Dark 1949 fest, dass ein Befall der Karotten mit Möhrenfliegenlarven zu tendenziell hohen Carotinoidkonzentrationen in der Wurzel führten, was darauf hinweist, dass die Carotinoidkonzentration möglicherweise als Stressindikator bei Schädlingsbefall dienen kann [Booth und Dark, 1949].

#### 2.2.7 Probenaufarbeitungs- und Carotinoidanalysemethoden

Die gegenwärtig angewendeten Probenaufarbeitungs- und Analysemethoden zum Nachweis von Carotinoiden in Karotten sind unterschiedlich. Sie unterscheiden sich vor allem in den Extraktionsmethoden, da bei fast allen Methoden der direkte Nachweis von Carotinoiden mittels LC und/oder LC-MS stattfindet. Einen guten Überblick über die verschiedenen Extraktionsmethoden der „klassischen“ Extraktion von Carotinoiden aus Karotten unter unterschiedlichen Bedingungen liefert der Artikel von Fiselova et al. aus dem Jahr 2008 [Fikselova et al., 2008]. Eine weitere Möglichkeit der Extraktion ist die der Extraktion mittels SPE, beschrieben z. B. bei Putzbach et al., 2005 und Iwase, 2002 [Putzbach et al., 2005; Iwase, 2002]. Seit 2004 ist eine weitere Extraktionsmethode für die Carotinoide bekannt, bei der die beschleunigte Lösungsmittelextraktion (Accelerated Solvent Extraction (ASE)) Verwendung findet [Breithaupt, 2004].

### 2.2.8 Carotinoid-Analytik

Für den Nachweis von Carotinoiden in Gemüsen ist eine Vielzahl der unterschiedlichsten Analyseverfahren bekannt [Tsukida et al., 1982; Tsukida, 1992; Lesellier et al., 1993; Putzbach et al., 2005; Iwase, 2002]. Aufgrund der kontinuierlichen Fortschritte der Analysemethoden sind immer genauere Aussagen über den Gehalt und die Zusammensetzung der Carotinoide in Gemüse möglich geworden. Als Extraktionsmittel wurden vor allem Aceton, n-Hexan, Petrolether, Acetonitril und Methanol (MeOH) in unterschiedlichen Mischverhältnissen verwendet [Hsieh und Karel, 1983]. Von der Verwendung von Dichlormethan, Chloroform, Tetrahydrofuran, Benzol und Toluol wurde aufgrund von Peaksplitting abgeraten [Khachik et al., 1988]. So kam auch ein sehr aufwendiges, in der Routineanalytik aus zeitlichen Gründen nicht durchführbares Ausschütteln mit nachgeschalteter Trocknung über Natriumsulfat [Marx et al., 2000], Calciumcarbonat [Emenhiser, 1996(a)] oder Magnesiumcarbonat zur Anwendung. Die Trocknung der Extrakte durch die Carbonate wurde angewendet, da vermutet wurde, dass die Carotinoide im sauren Milieu instabil seien und sie somit stabilisiert werden müssten [Lesellier et al., 1993]. Es stellte sich jedoch aufgrund von neueren Untersuchungen heraus, dass eine leicht saure Extraktion keinen Einfluss auf die Carotinoidstabilität hat und somit besser auf die Trocknungsmittel verzichtet wird [Kimura und Rodriguez-Amaya, 1999].

Die für die Extraktion der Carotinoide zur Anwendung kommenden Methoden unterscheiden sich teilweise erheblich in ihrer Durchführung. So war eine bewährte Extraktionsmethode die der AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1983). Bei dieser Methode wird ein Aceton/n-Hexan-Extrakt säulenchromatografisch auf Magnesium-Diatomeenerde mit dem Fließmittel Aceton/n-Hexan (1:9; v/v) getrennt und die eingeeengten Elutionen mittels Fotometrie bei 436 nm quantifiziert. Früher wurden Carotinoid-Extrakte direkt mittels HPLC aufgetrennt, dabei kam es bei der falschen Wahl des Extraktionsmittels häufig zu Peakverzerrungen. So wurde von Zapata und Garrido 1991 bei der Verwendung von Aceton, welches 1951 von Booth und anderen als das beste Extraktionsmittel postuliert wurde [Booth, 1951], abgeraten, da es, sofern es nicht durch die mobile Phase verdünnt wurde, zu Doppelpeaks oder starkem Tailing kam [Zapata und Garrido, 1991]. In den sich anschließenden Anfängen der Carotinoidanalytik mittels HPLC wurde mit unterschiedlichen stationären Phasen experimentiert. So kamen z. B. Kieselgel [Fiksdahl et al., 1978], Calciumhydroxid und Magnesiumoxid zur Anwendung, was jedoch das vorherrschende Problem der cis-/trans-Carotin-Trennung nicht löste und überdies durch zu lange Retentionszeiten eine Routineanalytik nur sehr begrenzt ermöglichte. Mit der Verwendung von Umkehrphasen in der Carotinoid-Analytik kamen auch Nitril- [Khachik et al., 1992], Amino- und C18-Phasen [Hsieh und Karel, 1983; Khachik et al., 1986; Khachik und Beecher,

1987; Edelenbos et al., 2001] zur Anwendung. In dieser Zeit erwies sich das System nach Bushway (1985) als das effektivste [Bushway, 1985]. Hierbei kamen Aluminiumoxidsäulen und ein Fließmittelgemisch aus Isooctan/Tetrahydrofuran (99,5:0,5; v/v) zum Einsatz. In der Mitte der 90er Jahre ermöglichte die Erfindung der C30-Säulen die Trennung von cis-trans-Carotin-Isomeren [Albert, 1998; Emenhiser et al., 1996(b)]. Bei Carotinoidanalytik in Gemüse zeigten Darnoko et al., 2000 und Burns et al., 2003, welche Anzahl von Carotinoid-Isomeren zuzüglich einiger Tocopherole und Chlorophylle innerhalb eines HPLC-Laufs aufgetrennt werden können [Darnoko et al., 2000; Burns et al., 2003].

Für die Auftrennung der Carotinoide in unterschiedlichen Verbindungsklassen wurden ebenfalls unterschiedliche Methoden verwendet. So wurden die Auftrennung der Carotinoide teilweise mittels selbst gezogener DC-Platten erreicht [Fiksdahl et al., 1978; Johjima und Ogura, 1983]. Für die Quantifizierung von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin kamen sowohl interne Standards als auch externe Kalibrierungen zur Anwendung. Für die Quantifizierung mittels internem Standard wurden z. B.  $\beta$ -Apo-8'-Carotenal für Xanthophylle, Echinenon, Decapreno- $\beta$ -Carotin oder Nonapreno- $\beta$ -Carotin verwendet [Khachik et al., 1986; Khachik und Beecher, 1987]. Es zeigte sich jedoch, dass viele der angewendeten Standards dem  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin strukturell zu unähnlich sind, somit unterschiedliche Verhalten bei der Extraktion und der Chromatographie zeigten, und so eine robuste Carotinoidanalytik/-Quantifizierung nicht möglich war [Marx et al., 2000]. Daher werden die meisten Quantifizierungen von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin mittels vorgeschalteter externer Kalibration durchgeführt.

Auf die Aufarbeitungsmethode der Verseifung, so wurde 1991 von Khachik et al. empfohlen, sollte besser verzichtet werden, da die Verluste an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin häufig sehr hoch waren [Khachik et al., 1991]. Es konnte zwar gezeigt werden, dass beim Vorliegen von Carotinoid-Estern sauerstoffhaltiger Xanthophylle und unter Anwendung von schonenden Verseifungsbedingungen Verluste minimiert werden können [Kimura et al., 1990], in Bezug auf die Carotinoid-Analytik in Karotten wird jedoch von der Verseifungsmethode in Allgemeinen abgeraten [Khachik und Beecher, 1987].

#### 2.2.9 Aufarbeitungs- und Analysetechniken innerhalb des Instituts für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz – Quedlinburg (ÖPV-Q)

Für den Nachweis von Carotinoiden in Karottenmaterial wurde innerhalb des ÖPV-Q in Anlehnung an Putzbach et al., 2005 und Iwase, 2002 eine HPLC-DAD-Analytik mit vorgeschalteter Aufarbeitung der Proben mittels SPE angewendet [Putzbach et al., 2005; Iwase, 2002]. Bei der Probenaufarbeitung für die SPE wurde eine Mischprobe aus 5 Karotten mit einem Entsafter entsaftet. Von dem Karottensaft wurden 5 ml in einen 50 ml

Weithalskolben pipettiert und anschließend mit HPLC reinem Wasser aufgefüllt und der Rundkolben mit einer schwarzen Tüte abgedunkelt. In der Zwischenzeit wurden die SPE-Säulen vorbereitet. Hierzu wurden sie mit Methanol und anschließend mit Wasser konditioniert. Für die Extraktion der Carotinoide aus dem Karottensaft-Wasser-Gemisch wurden 1 ml Gemisch auf eine konditionierte SPE-Säule aufgetragen und bis zu einem Überstand von ca. 0,5 mm durch die SPE-Säule gesaugt. Die Säule wurde im Anschluss daran zweimal mit 1 ml Wasser gespült und beim letzten Durchlauf trockengesaugt. Zur Elution der Carotinoide wurde die Säule mit 0,5 ml Methanol gespült und anschließend 1 Minute trockengesaugt. Anschließend erfolgte die Analytik mittels HPLC-DAD.

#### 2.2.10 Nachweismethode der Carotinoide nach LFGB

Der Nachweis von Carotinoiden nach den Vorschriften der amtlichen Sammlungen von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB beschränkt sich zum einen auf den Nachweis von Retinol sowie auf den Nachweis von  $\beta$ -Carotin und dessen Isomere. Für den Nachweis von Retinol als auch für  $\beta$ -Carotin wird zuerst die Lebensmittelprobe mit ethanolischer und methanolischer Kaliumhydroxid-Lösung verseift, im Anschluss erfolgt eine Lösemittel-Extraktion und die Analytik mittels HPLC mit Fluoreszenz- oder Ultraviolett-Detektor. Der Nachweis der Substanzen erfolgt nach ihrer Retentionszeit durch Injektion eines externen oder internen Standards [Amtliche Sammlung nach § 64 LFGB, Stand: Juli 2001].

### 2.3 Polyacetylene

#### 2.3.1 Chemische Struktur, gesundheitsfördernde Wirkung und Geschmack

Polyacetylene, welche zur Gruppe der natürlichen Acetylenverbindungen gehören, umfassen eine große Gruppe unterschiedlicher Verbindungen. Alle diese Verbindungen werden durch zwei oder mehr  $C\equiv C$ -Dreifachbindungen charakterisiert. Diese Moleküle sind relativ instabil und besitzen ein bioaktives Potenzial. Polyacetylene sind u. a. in Pflanzen, Pilzen, Mikroorganismen und wirbellosen Meeresbewohnern nachgewiesen worden [Dembitsky, 2006; Christensen, 1998; Christensen und Brandt, 2006; Bohlmann, 1988; Hansen und Boll, 1986(a)]. In der Pflanzenwelt treten die Polyacetylene für gewöhnlich in höheren Pflanzen und dort in mehreren Familien auf, so auch in den *Apiaceen* [Hansen und Boll, 1986; Christensen, 1998]. Polyacetylene wurden in den Ölgängen bzw. bei Karotten in extrazellulären Öltröpfchen gelöst lokalisiert [Bohlmann, 1969; Garrod und Lewis, 1979]. In hohen Konzentrationen sind die Polyacetylene sehr reaktiv, in starken Verdünnungen nimmt

die Reaktionsneigung ab und sie sind relativ stabil [Bohlmann, 1969]. Die in den *Apiaceen* vorhandenen Polyacetylene sind vor allem aliphatische Acetylene, besonders C<sub>17</sub>-Polyacetylene. In der Karotte kommen vor allem drei Polyacetylene vor. Bei diesen handelt es sich um das Falcarinol,

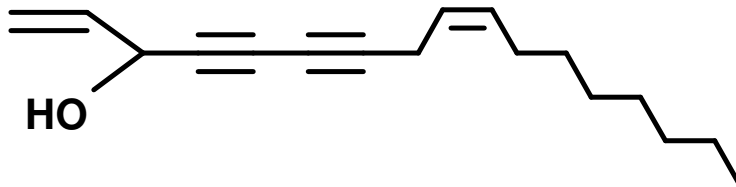


Abbildung 2-3-1: Strukturformel von (3R)-[Z]-Heptadeca-1,9-dien-4,6-diin-3-ol (Falcarinol)

das Falcarindiol

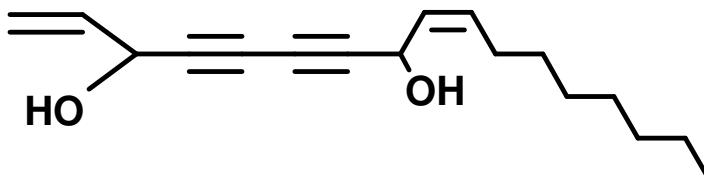


Abbildung 2-3-2: Strukturformel von (3R,8S)-[Z]-Heptadeca-1,9-dien-4,6-diin-3,8-diol (Falcarindiol)

und das Falcarindiol-3-Acetat [Czepa und Hofmann, 2003; Czepa und Hofmann, 2004; Kidmose et al., 2004; Zidorn et al., 2005].

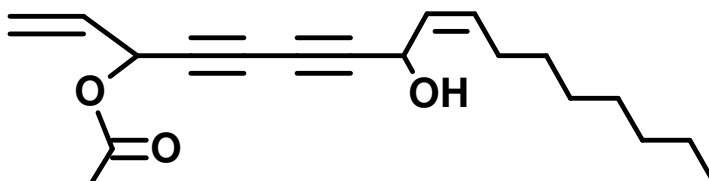


Abbildung 2-3-3: Strukturformel von [Z]-3-Acetoxy-heptadeca-1,9-dien-4,6-diin-8-ol (Falcarindiol-3-Acetat)

Diese drei Polyacetylene werden auch unter dem Begriff der Polyacetylene des „Falcarinol-Typs“ im Folgenden zusammengefasst. Aufgrund der Bioaktivität der Polyacetylene werden die gesundheitsfördernden Eigenschaften von einigen Nahrungsgemüsen eng mit den aliphatischen Polyacetylenen des Falcarinol-Typs verknüpft.

Das Auftreten der Polyacetylene in Karottenwurzeln wird sowohl mit einem bitteren Geschmack, als auch mit einer antimikrobiellen Wirkung in Verbindung gebracht [Czepa und Hofmann, 2003; Olsson und Svensson, 1996]. In orangenen Karotten schwankt der Gehalt

an Polyacetylenen abhängig vom Genotyp, von Abbaubedingungen sowie biotischem und abiotischem Stress [Kidmose et al., 2004]. Eine weitere Ursache für die schwankenden Polyacetylengehalte ist, dass Polyacetylene während des Wachstumsprozesses der Karotten gebildet werden und somit der Zeitpunkt der Probennahme/Ernte bzw. der Analyse einen großen Einfluss auf die gemessene Konzentration der Polyacetylene hat. Dies gilt sowohl für einen Vergleich zwischen den einzelnen Genotypen sowie für die absoluten Polyacetylengehalte und die individuellen Gehalte der einzelnen Polyacetylene [Kreutzmann et al., 2008(a); Kreutzmann et al., 2008(b); Kidmose et al., 2004; Lund und Bruemmer, 1991; Lund und Marion, 1990].

Polyacetylene konnten in verschiedenen *Daucus*-Typen nachgewiesen werden, wobei sich die Polyacetylen-Zusammensetzung unterschied. Allen Genotypen gemeinsam war jedoch die Präsenz des Polyacetylen Falcarinol [Crowden et al., 1969]. Screening-Studien von unterschiedlichen Genotypen ergaben, dass der Polyacetylengehalt in den Wildformen deutlich höher liegt als in den kultivierten Karotten [Baranska und Schulz, 2005; Schulz und Baranska, 2005]. Da Polyacetylene im Verdacht standen, einen großen Einfluss auf den Bittergeschmack von Karotten zu haben, überprüften Czepa und Hofmann 2003 [Czepa und Hofmann, 2003] diese These mithilfe einer Kombination von Sensorik und Chromatographie. Hierbei stellten sie fest, dass Falcariindiol einen großen Einfluss auf den Bittergeschmack in Karotten hat und sich dadurch eine neue Kenngröße für die Beurteilung der Karottenqualität erschließt. Auch Falcarinol kann mit dem bitteren Geschmack von Karotten in Verbindung gebracht werden. Der Schwellenwert des Gehaltes an Falcarinol für die geschmackliche Relevanz liegt aber deutlich höher als der bei Falcariindiol. Obwohl Falcarinol geringere Auswirkungen auf den bitteren Geschmack der Karotten hat, lässt sich jedoch aus dem hohen antioxidativen Potenzial von Falcarinol ein sehr hoher Effekt in Bezug auf die gesundheitsfördernden Eigenschaften von Karotten ableiten [Kidmose et al., 2004; Hansen et al., 2003; Kobaek-Larsen et al., 2005; Brandt et al., 2007]. Für medizinische und therapeutische Zwecke wird Falcarinol wegen des dort relativ hohen Gehaltes hauptsächlich aus Ginsengwurzeln gewonnen [Hansen und Boll, 1986(a)]. Das in Karotten vorhandene Falcarinol wurde zuerst als Carotoxin bezeichnet [Czepa und Hofmann, 2003]. Es ist bioverfügbar und zeigt eine hohe Aktivität auf. Studien, in denen Ratten mit rohen Karotten oder extrahiertem Falcarinol gefüttert wurden, zeigten, dass dieses Polyacetylen die Bildung von Darmkrebs verhindern kann [Kobaek-Larsen et al., 2005]. Über dies konnte nachgewiesen werden, dass die anti-karzinogene Wirkung der Karotten von Falcarinol und nicht wie bisher angenommen von  $\beta$ -Carotin abhängt. Ferner wurde herausgefunden, dass bei Aufnahme von zu großen Mengen von Falcarinol die positiven Eigenschaften in negative umschlagen können. Falcarinol wirkt dann toxisch auf den menschlichen Organismus



[Christensen und Brandt, 2006; Hansen et al., 2003]. Wegen der hohen Instabilität der Polyacetylenverbindungen war anzunehmen, dass während der Lagerung von Karotten deren Gehalt abnimmt. Hansen et al. ermittelten 2003 den Einfluss der Lagerung auf den Falcarinolgehalt in Karotten [Hansen et al., 2003]. Sie fanden heraus, dass sich der Gehalt an Falcarinol während einer Langzeitlagerung von Karottenwürfeln um 35 % reduziert. Kreutzmann et al. beschäftigten sich 2007 mit der Lagerstabilität von Polyacetylenen in Karottensticks und geschredderten Karotten während einer Langzeitlagerung bei -24 °C [Kreutzmann et al., 2007(b)]. Der Gehalt an Polyacetylenen wurde nach 4 und 8 Monaten bestimmt. Es stellte sich heraus, dass die Langzeitlagerung keinen Einfluss auf den Gehalt von Falcarinol und Falcarindiol-3-Acetat hat. Sie erklärten sich diese Ergebnisse damit, dass entweder die Enzyme zum Falcarinol- und Falcarindiol-3-Acetat-Abbau nicht aktiv waren oder weder FaOH noch FaDOH-3-Acetat während der Lagerung oxidiert werden. Einen großen Einfluss hatte die Langzeitlagerung jedoch auf die Konzentration von Falcarindiol. Nach 8 Monaten war sowohl bei den geschredderten Karotten als auch bei den Karottensticks der Gehalt um 80 % reduziert. Die Falcarindiol-Konzentrationen nach 4 monatiger Lagerung wurden, aufgrund der genetischen Variabilität des Probenmaterials, als nicht valide verworfen [Kreutzmann et al., 2007(b)].

### 2.3.2 Biosynthese der Polyacetylene des Falcarinol-Typs

Vermutlich geht die Biosynthese der C<sub>17</sub>-Polyacetylene von ungesättigten Fettsäuren als Ausgangssubstanzen aus; der genaue Biosyntheseweg ist jedoch bisher noch unbekannt (Abbildung 2-3-4).

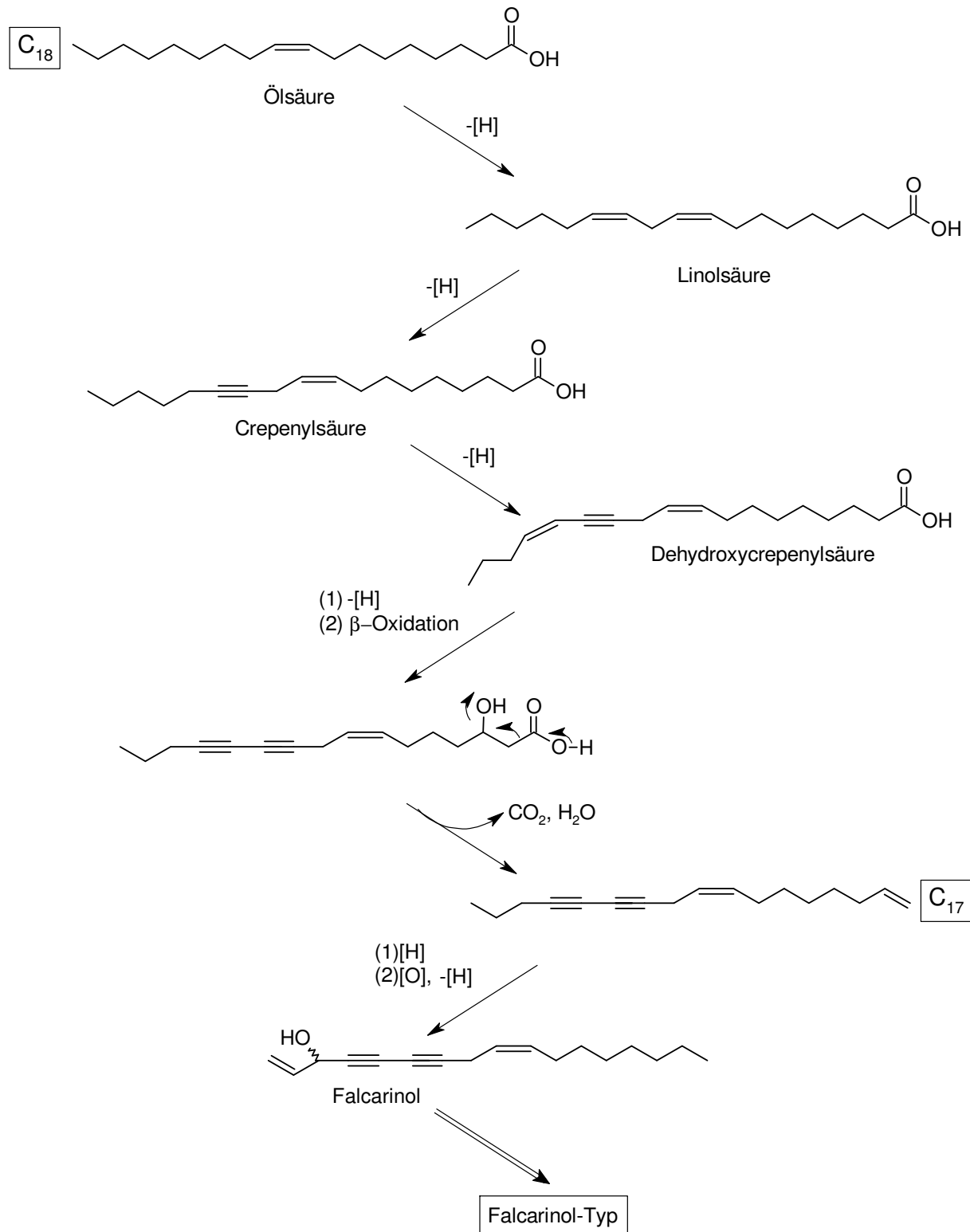


Abbildung 2-3-4: Möglicher Biosyntheseweg von aliphatischen  $\text{C}_{17}$ -Polyacetylenen des Falcarinol-Typs nach Bohlmann, 1973 [Bohlmann et al., 1973]

Beim Vergleich der Struktur und dem Aufbau von Polyacetylenen mit denen von Ölsäure, Linolsäure, Crepinolsäure und Dehydroxycrepinolsäure fällt eine starke Ähnlichkeit in den Strukturen, beginnend mit der Ölsäure und endend mit den Polyacetylenen, auf. Dies kann

durch die Tatsache erklärt werden, dass die meisten Polyacetylene die oben erwähnten Säuren als Vorstufen für ihre Biosynthese haben (Abbildung 2-3-4) [Santos et al., 2005]. Durch eine Reihe von Fütterungsexperimenten mit  $^{14}\text{C}$ - und  $^3\text{H}$ -markierten Vorstufen der Polyacetylenbiosynthese wurden diese Vermutungen bestätigt. Überdies konnte nachgewiesen werden, dass Polyacetylene aus Acetat- und Malonateinheiten aufgebaut werden [Christensen und Brandt, 2006; Christensen, 1998; Bohlmann, 1988; Hansen und Boll, 1986(a); Jente et al., 1988; Bullock und Smalley, 1962; Barley et al., 1988]. Die Biosynthese von Polyacetylenen startet mit einer Wasserstoffabspaltung bei der Ölsäure. Aus der daraus entstandenen Linolsäure wird unter Abspaltung eines Wasserstoffatoms zuerst Crepenylsäure und im Anschluss daran Dehydroxycrevenylsäure, welche durch  $\alpha$ - und  $\beta$ -Oxidation oder andere Oxidationsreaktionen zu Polyacetylenvorstufen mit unterschiedlicher Kettenlänge führt, die daraufhin zu einer Vielzahl unterschiedlicher Polyacetylene umgewandelt werden können (Abbildung 2-3-5) [Christensen und Brandt, 2006; Christensen, 1998; Bohlmann, 1988; Hansen und Boll, 1986(a)]. Die beteiligten Enzyme, welche diese Teilreaktionen katalysieren, sind allerdings noch nicht im Einzelnen identifiziert (Abbildung 2-3-6) [Bohlmann, 1969; Cahoon et al., 2003]. Die Biosynthese von Polyacetylenen des Falcarinol-Typs und ähnlich aufgebauter Polyacetylene folgt dem normalen Biosyntheseweg für aliphatische  $\text{C}_{17}$ -Acetylene beginnend mit Wasserstoffabspaltung bei der Ölsäure, die zu dem Zwischenprodukt Linolsäure, unter weiterer Wasserstoffabspaltung zur Crepenylsäure und anschließend zur Dehydroxycrevenylsäure führt, welche im Anschluss mittels  $\beta$ -Oxidation und nachgeschalteter Abspaltung von  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  zu  $\text{C}_{17}$ -diene Polyacetylenen umgewandelt werden; weitere Oxidationen und Wasserstoffabspaltungen führen dann zu Polyacetylenen des Falcarinol-Typs (Abbildung 2-3-5).

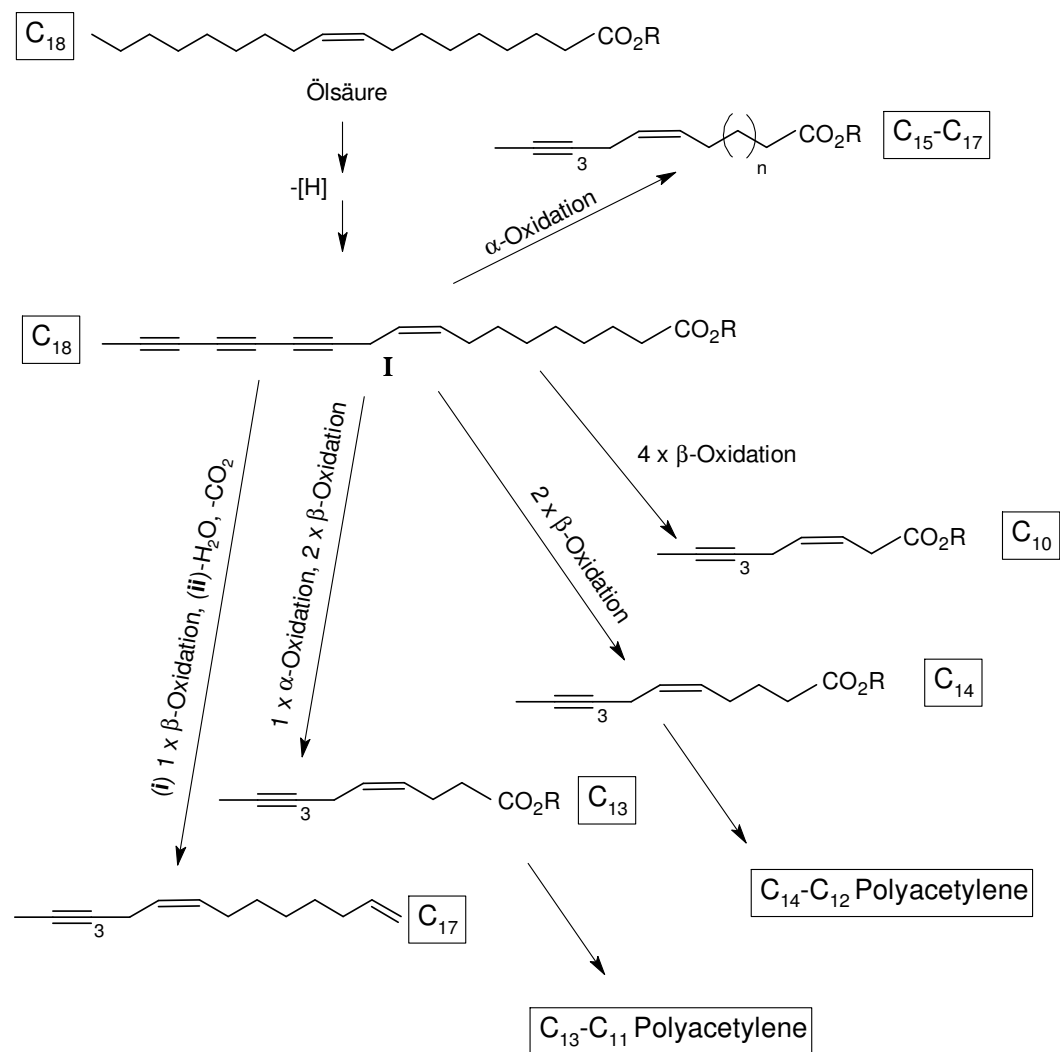


Abbildung 2-3-5: Biosyntheseweg für Polyacetylene mit unterschiedlicher Kettenlänge, ausgehend von der Ölsäure nach Bohlmann, 1973 [Bohlmann, 1973]

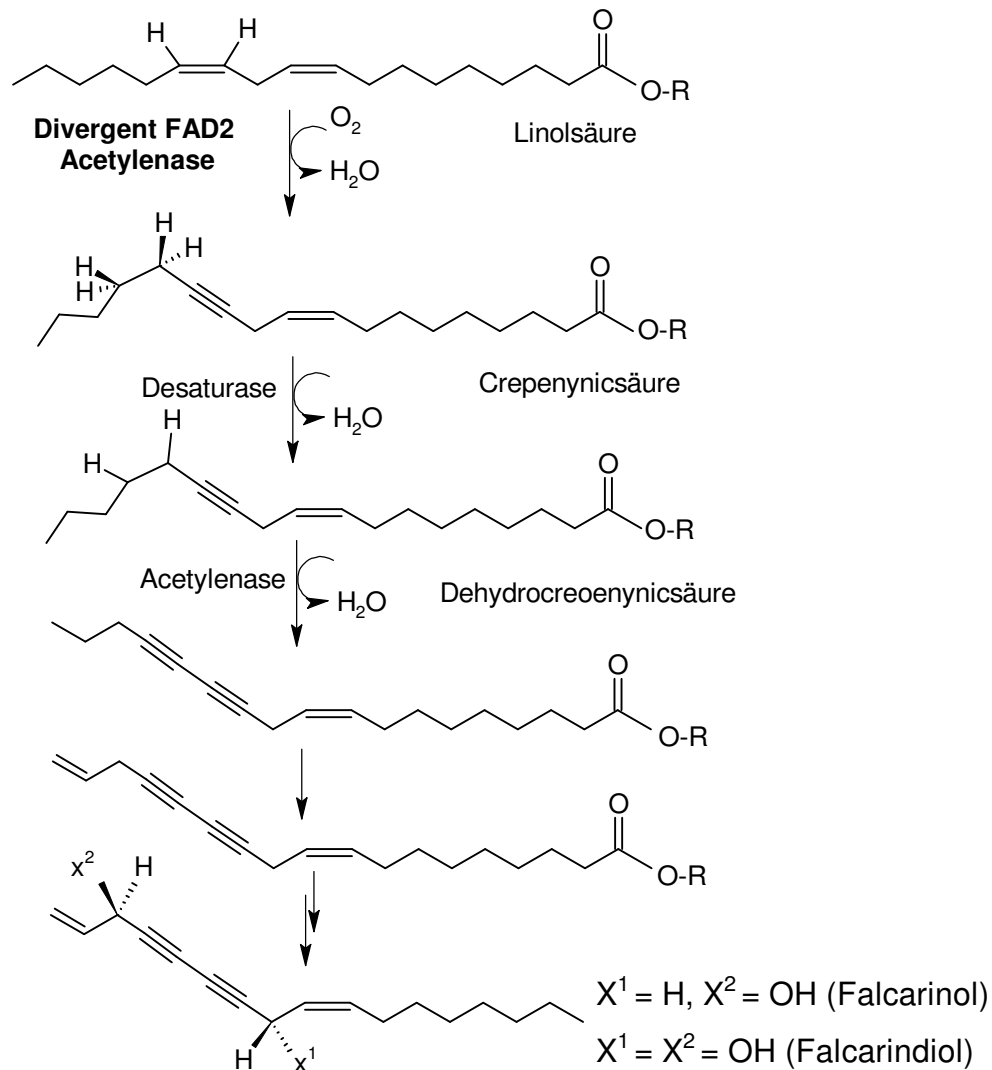


Abbildung 2-3-6: Dargestellter Biosyntheseweg nach Cahoon et al., 2003 [Cahoon et al., 2003]

Im Folgenden werden die drei wichtigsten Polyacetylene in der Karotte genauer betrachtet, bei ihnen handelt es sich, wie schon besprochen, um FaOH, FaDOH und FaDOH-3-Acetat.

### 2.3.2.1 Falcarinol

Bei Falcarinol (Abbildung 2-3-1) handelt es sich um eine bei Raumtemperatur flüssige Substanz, welches ein Molekulargewicht von 244 Dalton aufweist und bei 115 °C siedet. Es ist ein instabiles sowie licht- und hitzelabiles Molekül. Das (+)-Enantiomer von Falcarinol wird als Panaxynol bezeichnet [Steglich et al., 1997; Hansen et al., 2003]. Es wurde zum ersten Mal 1967 von Crosby und Aharonson aus Karotten isoliert und wurde zu dieser Zeit noch als Carotatoxin bezeichnet [Crosby und Aharonson, 1967]. In Anlehnung an Bohlmann et al., 1966 [Bohlmann et al., 1966] wurde im selben Jahr das Carotatoxin als  $C_{17}$ -Alkohol charakterisiert. Das Carotatoxin besaß dieselbe Identität wie das von Bohlmann aus *Falcaria*

*vulgaris* Bernh. isolierte Falcarinol; damit ergab sich für das Falcarinol die Summenformel  $C_{17}H_{24}O$  [Bentley et al., 1969]. Falcarinol ist ein chemisch reaktives Molekül, welches unter Einwirkung eines Protons die Hydroxygruppe in Form von Wasser abspaltet; hieraus entsteht ein stabiles Carbokation. Dieses reagiert leicht mit Mercapto- und Aminogruppen in Proteinen und kann somit als Hepten fungieren [Hansen und Boll, 1986(b)]. Bei Toxizitätstests an Mäusen stellte sich eine Neurotoxizität von Falcarinol heraus; daraufhin wurde der  $LD_{50}$ -Wert auf 100 mg/kg festgelegt [Crosby und Aharonson, 1967]. Überdies wurde herausgefunden, dass Falcarinol in Pflanzen unter Stressbedingungen gebildet wird und beim Menschen Kontaktdermatitis verursachen kann [Crosby und Aharonson, 1967; Steglich et al., 1997]. Des Weiteren wurde in klinischen Untersuchungen entdeckt, dass Falcarinol die Aggregation von Blutplättchen hemmt, entzündungshemmende Wirkung besitzt und gegen Tuberkulose wirkende Eigenschaften besitzt [Steglich et al., 1997; Fujimoto et al., 1998; Kobaisy et al., 1997]. Außerdem wurde *in vitro* eine signifikante zytotoxische Aktivität gegenüber menschlichen Tumorzellen festgestellt. Die signifikanten Konzentrationen wurden bei ca. 0,03 µg/ml ermittelt. Weiterhin wurde nachgewiesen, dass Falcarinol aus Karottensaft eine sehr gute Bioverfügbarkeit aufweist, es wird daraus schnell vom Darm resorbiert und erreicht schon 2 Stunden nach Aufnahme seine maximale Serumkonzentration [Matsunaga et al., 1990; Brandt et al., 2007; Christensen und Brandt, 2006]. Bei Gehalten von 1 ng/ml stimuliert Falcarinol die Zelldifferenzierung, wohingegen es bei Konzentrationen von über 1000 ng/ml toxisch wirkt, was auf hormonelle Eigenschaften hinweist [Hansen et al., 2003].

#### 2.3.2.2 Falcarindiol

Bei Falcarindiol (Abbildung 2-3-2) handelt es sich um das polarste Polyacetylen in Karotten. Es ist eine bei Raumtemperatur flüssige, farblose Substanz mit der Summenformel  $C_{17}H_{24}O_2$ , und einem Molekulargewicht von 260 Dalton. Es wurde erstmals von Bohlmann et al., 1996 aus *Falcaria vulgaris* Bernh. isoliert und charakterisiert [Bohlmann et al., 1966]. In Wasser ist es nur sehr schlecht löslich, besser dagegen in Hexan. Bei Temperaturen unter -18 °C besteht jedoch auch in Hexan eine schlechte Löslichkeit. Am besten löst sich Falcarindiol in Dichlormethan [Yates und England, 1982; Bernart et al., 1996]. In der Karotte lokalisierten Garrog und Lewis 1978 Falcarindiol als extrazelluläres Öl im Periderm bzw. Perizykelparenchym. Toxikologische Studien an Mäusen ergaben einen  $LD_{50}$ -Wert von 133 mg/kg [Yates und England, 1982]. Obwohl Falcarindiol eine geringere Bioaktivität als Falcarinol aufweist, besitzt es *in vitro* sowohl zytotoxische als auch antimutagene Eigenschaften [Cunsolo et al., 1993; Bernart et al., 1996; Miyazawa et al., 1996]. Des Weiteren wurde eine starke Mykotoxizität festgestellt, die sich besonders bei den Pilzen

*Mycocentrospora acerina* und *Cladosporium cladosporoides* zeigt; diese bewirken bei Karotten Lagerkrankheiten. Es wurde nachgewiesen, dass hohe Konzentrationen an Falcarindiol im Karotten-Perizykelparenchym die Resistenz der Karotte gegenüber Pilzbefall verbessern [Olsson und Svensson, 1996; Garrod et al., 1978].

#### 2.3.2.3 Falcarindiol-3-Acetat

1969 wurde Falcarindiol-3-Acetat (Abbildung 2-3-3) zum ersten Mal aus frischen Karotten durch Bentley et al. isoliert [Bentley et al., 1969]. Falcarindiol-3-Acetat weist die Summenformel  $C_{19}H_{26}O_3$ , mit einem Molekulargewicht von 302 Dalton auf. Da es noch keine genaueren Untersuchungen über Falcarindiol-3-Acetat und somit auch nicht über seine physikalischen wie chemischen Eigenschaften gibt, es jedoch zu den Polyacetylenen des Falcarinol-Typ gehört, werden für das Falcarindiol-3-Acetat ähnliche Eigenschaften angenommen wie für die übrigen Polyacetylene des Falcarinol-Typs. Bei den durch Falcarindiol-3-Acetat hervorgerufenen physiologischen Wirkungen wird davon ausgegangen, dass diese ähnlich der zuvor beschriebenen Polyacetylene ist, jedoch in abgeschwächter Form. Dies wird durch die Möglichkeit des Falcarindiol-3-Acetats begründet, zwei aktive Zentren für einen nucleophilen Angriff zu regenerieren. Bei solchen Angriffen wird jedoch der lipophile Charakter reduziert, was auf eine geringere zytotoxische Wirkung des Falcarindiol-3-Acetats gegenüber Falcarinol hinweist. Weiterhin wird angenommen, dass Falcarindiol-3-Acetat der Antagonist zu Falcarinol ist und somit Teile seiner Aktivität verliert [Kobaek-Larsen et al., 2005]. Untersuchungen von Lund aus dem Jahr 1992 ergaben, dass es sich bei dem in der Literatur besprochenen Falcarindiol-3-Acetat in vielen Fällen um eine Mischung aus Falcarindiol-3-Acetat und -1-Acetat handelt. Abhängig von der Polarität des Lösungsmittels, der Konzentration sowie der Temperatur dominierte eines der beiden Isomere; bei Raumtemperatur ist das 1-Acetoxy-heptadeca-1,9-dien-4,6-dien-8-ol stabiler als das 3-Acetat [Lund, 1992].

#### 2.3.4 Polyacetylene in der Karotte

Die in den Karotten enthaltenen Polyacetylene, deren fungizide Wirkung bekannt ist, werden vor allem während des Wachstums der Karotten, jedoch auch während der nachgeschalteten Lagerung gebildet [Harding und Heale, 1981; Olsson und Svensson, 1996]. Eine Reihe von Faktoren haben Einfluss auf den Polyacetylengehalt der Karotten. Zu den wichtigsten Faktoren gehören unter anderem der Genotyp, der Anbauort, biotischer und abiotischer Stress, Lagerungsdauer und Wurzelgröße [Kidmose et al., 2004; Lund und Bruemmer, 1991; Lund und Marion, 1990]. Frühere Studien zeigen einen deutlichen

Zusammenhang zwischen Polyacetylgehaltem in der Wurzel und dem Genotyp, dem Anbauort sowie Verarbeitungs- und Lagerungseinflüssen. Wie der Tabelle 2 auf Seite 198 bei Kreutzmann et al. aus dem Jahr 2008 zu entnehmen ist, wurden große Unterschiede in den Polyacetylgehalten festgestellt [Kreutzmann et al., 2008]. Das lag hauptsächlich an den unterschiedlichen Genotypen, welche bei dieser Untersuchung verwendet wurden. Die Studie von Kidmose et al. 2004 [Kidmose et al., 2004] zeigt, dass sowohl die Wurzelgröße als auch der Anbauort einen großen Einfluss auf den Polyacetylgehalt in den Karotten haben. Überdies wurde aufgezeigt, dass bei Falcarindiol und Falcarindiol-3-Acetat die Konzentrationen mit Anstieg der Wurzelgröße proportional abnahmen, wohingegen die des Falcarinol unverändert blieben. Des Weiteren wurde festgestellt, dass der Standort der Karotten einen signifikanten Einfluss auf den Polyacetylgehalt ausübt [Kidmose et al., 2004]. In den Veröffentlichungen von Kreutzmann et al. aus dem Jahr 2008 sowie Christensen und Kreutzmann aus dem Jahr 2007 wurde der Gehalt von unterschiedlichen Karottentypen untersucht. Es stellte sich heraus, dass sich die Gehalte sowohl bei Falcarinol, Falcarindiol als auch beim Falcarindiol-3-Acetat signifikant unterschieden [Kreutzmann et al., 2008(a); Christensen und Kreutzmann, 2007]. So bewegten sich die Konzentrationen der Karottengenotypen bei Falcarinol zwischen 2,97 und 6,70 mg/100 g Frischmasse, bei Falcarindiol zwischen 0,48 und 4,04 mg/100 g FM und beim Falcarindiol-3-Acetat zwischen 0,51 und 2,16 mg/100 g FM. Es stellt sich überdies heraus, dass das Falcarinol in allen geschälten Karottenproben das Polyacetylen war, welches die höchste Konzentration aufwies. In ungeschälten Karotten ist im Gegensatz dazu Falcarindiol das Polyacetylen mit der höchsten Konzentration [Czepa und Hofmann, 2004; Kidmose et al., 2004; Lund und Bruemmer, 1991; Lund und Marion, 1990]. Czepa und Hofman untersuchten 2004 die Verteilung der Polyacetylene in der Karotte. Sie stellten fest, dass das Falcarindiol in deutlich höheren Konzentrationen im Phloem und im oberen Teil der Karotten zu finden ist (~33 mg/100 g FM) und weniger im Xylem und im unteren Teil der Karottenwurzeln (<20 mg/100 g FM) [Czepa und Hofmann, 2004]. Diese Ergebnisse stimmen mit den Ergebnissen anderer Studien überein, welche das Falcarindiol verstärkt in der Schale und in den äußeren Bereichen des Phloems lokalisierten [Christensen und Brandt, 2006; Baranska und Schulz, 2005; Baranska et al., 2005; Kreutzmann et al., 2008(a)]. Kreutzmann und Christensen legten 2007 dar, dass die Konzentration an Falcarindiol in der Karottenschale zehnfach höher ist als die Konzentration an FaDOH in den dazugehörigen geschälten Karottenwurzeln [Kreutzmann et al., 2008]. Ebenso verhielt es sich mit Falcarindiol-3-Acetat, welches in höheren Konzentrationen in der Karottenschale als in der übrigen Karotte vorlag. Dies führte zu dem Schluss, dass es sich mit der Verteilung des Falcarindiol-3-Acetats ähnlich verhält, wie bei der des Falcarindiols. Im Unterschied dazu besteht bei Falcarinol



keine signifikante Differenz zwischen den Konzentrationen in der Schale der Karottenwurzel und den Konzentrationen in der übrigen Wurzel.

Kreutzmann et al. stellten 2008 fest, dass innerhalb der Karottenproben desselben Genotyps deutliche Unterschiede im Polyacetylgehalt auftreten, sowohl bei Karottenschalen als auch bei geschälten Karottenproben [Kreutzmann et al., 2008(a)]. Angesichts der guten Reproduzierbarkeit ihrer HPLC-Methoden gehen Kreutzmann et al. davon aus, dass der Ursprung der Konzentrationsschwankungen in den Karottenproben nicht auf einen systematischen Fehler in der Analysemethode, sondern auf die Unterschiede im Karottenmaterial selbst zurückzuführen sind. Sie schließen daher, dass der Polyacetylgehalt innerhalb eines Genotyps bei gleichen Anbaukonditionen von Karotte zu Karotte schwankt. Basierend auf dieser Erkenntnis ist es notwendig, neben den zuvor erwähnten Einflussfaktoren auf den Polyacetylgehalt in Karotten, wie z. B. Standort, Genotyp und Anbaubedingungen, auch den Faktor der internen und individuellen Konzentrationsschwankung in zukünftige Überlegungen mit einzubeziehen.

#### 2.3.5 Extraktionsmethoden von Polyacetylenen aus Karotten

In der aktuellen Literatur findet sich eine Vielzahl unterschiedlicher Methoden zur Untersuchung von Polyacetylenen mittels HPLC. Bei den beschriebenen Methoden wurden unterschiedliche Pflanzen auf den Gehalt an Polyacetylen des Falcarinol-Typs analysiert [Kidmose et al., 2004; Zidorn et al., 2005; Hansen et al., 2003; Wittstock et al., 1995; Avalos et al., 1995; Kreutzmann et al., 2008(a)]. Überdies werden Methoden zum Nachweis von Polyacetylenen mittels Gaschromatographie-Techniken (GC-FID und/oder GC-MS) [Czepa und Hofmann, 2003; Czepa und Hofmann, 2004; Zidorn et al., 2002; Santos et al., 2005(a); Nitz et al., 1990] sowie eine Methode zum Nachweis von Polyacetylenen bzw. zum Nachweis und zur Quantifizierung von Falcarinol und Falcarindiol in Blutplasma mittels Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (HPLC-MS-MS) beschrieben [Christensen und Brandt, 2006].

Basis für die Analytik der Polyacetylene in Karotten sind die gesamten, zerkleinerten Wurzeln bzw. Blätter. Bei der von Bohlmann entwickelten Methode werden die Polyacetylene mit einer Mischung aus Petrolether und Diethylether extrahiert. Der Extrakt wird im Anschluss mit einer Chromatographiesäule aufgetrennt und UV-spektrometrisch untersucht [Winterfeld, 1994]. Durch die typischen UV-Spektren der Polyacetylene des Falcarinol-Typs war es Bohlmann möglich, das Extraktionsverfahren so zu optimieren, dass er reine Substanzen darstellen konnte. Mittels UV-, IR-, Massen- und NMR-Spektroskopie konnte er die drei Polyacetylene charakterisieren und deren Struktur ermitteln. Zur Absicherung seiner

Ergebnisse synthetisierte er die entsprechenden Verbindungen und analysierte diese [Bohlmann, 1969; Schrader et al., 2005]. An den Aufarbeitungsmethoden hat sich bis heute nicht viel verändert. Die Polyacetylene des Falcarinol-Typs werden mittels eines organischen Lösungsmittels wie z. B. Ethylacetat, Diethylether, Dichlormethan oder Methanol aus frischem oder getrocknetem Karottenmaterial herausgelöst.

Gegenwärtig wird die Extraktion der Polyacetylene des Falcarinol-Typs in der Regel mittels Soxhlet-Henkel-Extraktion [Miladi et al., 2008; Schinkovitz et al., 2008] durchgeführt. Aktuell wird die Möglichkeit der Extraktion von Falcarinol mittels ASE diskutiert und angewendet [Pferschy-Wenzig et al., 2009].

### 2.3.6 Trennmethoden für den Nachweis von Polyacetylenen

Im Anschluss an die Extraktion der Polyacetylene wird der Extrakt mit Hilfe von Stufen-Elutions-Chromatographie und/ oder Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel [Wittstock et al., 1995; Miyazawa et al., 1996; Hansen, Stig et al., 2003; Kidmose et al., 2004] und bei einer Kombination von Kieselgel- und Gelpermeationschromatographie an Sephadex LH-20 [Bernart et al., 1996; Zidorn et al., 2005] in einzelne Fraktionen aufgetrennt. Bei der Chromatographie mit Kieselgel zur Auftrennung der Polyacetylene des Falcarinol-Typs wurden unterschiedliche Gradientensysteme sowohl mit n-Hexan und Petrolether als auch mit unterschiedlichen Anteilen an Ethylacetat oder Diethylether eingesetzt [Wittstock et al., 1995; Miyazawa et al., 1996; Hansen, Stig et al., 2003; Kidmose et al., 2004; Czepa und Hofmann, 2003]. Bei der Fraktionierung an Sephadex LH-20 wurde häufig eine Mischung aus Dichlormethan und Aceton [85:15 (v/v)] verwendet [Zidorn et al., 2005]. Dadurch, dass die Polyacetylene des Falcarinol-Typs, zu denen Falcarinol, Falcarindiol und Falcarindiol-3-Acetat zählen, mit ihren typischen zwei  $C\equiv C$ -Dreifachbindungen und den zwei  $C=C$ -Doppelbindungen charakteristische UV-Spektren aufweisen, sind sie recht einfach mittels Diode-Array-Detector (DAD) [Wittstock et al., 1995; Hadacek et al., 1988] zu detektieren. Für die Detektion der Polyacetylene des Falcarinol-Typs wird meistens die UV-spektroskopische Detektion verwendet.

Zwar liegen die charakteristischen UV-Maxima der Polyacetylene im Bereich  $> 230$  nm, es wird jedoch üblicherweise, für eine bessere Trennung von den Begleitstoffen, eine Detektionswellenlänge von 205 nm verwendet [Zidorn et al., 2005; Hansen, Stig et al., 2003; Kidmose et al., 2004]. Damit ist die UV-Empfindlichkeit bei dieser Wellenlänge um den Faktor 10 erhöht und gleichzeitig die Detektions- und Nachweisgrenze der Polyacetylene minimiert. Dies ist auf der einen Seite von Nachteil, da in den meisten Pflanzen und so auch in den Karotten die Polyacetylene nur in sehr geringen Konzentrationen auftreten

[Christensen und Kreutzmann, 2007]. So bewegen sich die Gehalte an Polyacetylenen in Karotten in Regionen um 6 mg/kg Frischgewicht [Czepa und Hofmann, 2004; Kidmose et al., 2004]. Auf der anderen Seite ist eine hohe Nachweisgenauigkeit besonders bei der Isolierung und Aufreinigung von Polyacetylenen von großer Bedeutung. Für die Identifikation der Polyacetylene mittels UV-Detektor mit anschließender Absicherung mittels MS oder 1-D- und 2-D-NMR ist die Verwendung der charakteristischen UV-Maxima sinnvoll (Tabelle 2-3-1).

Tabelle 2-3-1: Übersicht über charakteristische UV-Maxima ausgewählter Polyacetylene nach Bentley et al., 1969) [Bentley et al., 1969]

Polyacetylen	UV-Maximum [nm]
Falcarinol	256, 242, 230
Falcarindiol	258, 244, 232
Falcarindiol-3-Acetat	259, 245, 233

Eine genaue qualitative und quantitative Charakterisierung der Polyacetylene des Falcarinol-Typs ist in der Literatur nur vereinzelt beschrieben [Wittstock et al., 1995; Zidorn et al., 2005; Hansen et al., 2003; Kidmose et al., 2004; Zidorn et al., 2002; Law und Moody, 1995; Hadacek et al., 1988]. Bei allen Nachweismethoden wurden stets unterschiedliche C18-Umkehrphasen-Säulen, wie z. B. die LiChrospher 100 RP-18 [Hansen et al., 2003; Kidmose et al., 2004], die Zorbax Rx-C18 [Zidorn et al., 2005; Zidorn et al., 2002], die Spherisorb 5S ODC [Wittstock et al., 1995; Hadacek et al., 1988], die Econosphere C18 [Law und Moody, 1995], die LiChrosorb RP-18 [Washida und Kitanaka, 2003] sowie die Luna C18 [Christensen und Kreutzmann, 2007] verwendet. Das Gradientensystem bestand meistens aus Methanol/Wasser oder Acetonitril/Wasser. Die genaue Detektion der Polyacetylene wird durch ihre charakteristischen  $C\equiv C$ -Dreifachbindungen erleichtert und erfolgt mittels Diodenarray-Detektor [Wittstock et al., 1995; Hadacek et al., 1988; Christensen und Kreutzmann, 2007]. Ihre Quantifizierung erfolgt entweder mittels geeignetem internen Standard [Zidorn et al., 2005; Czepa und Hofmann, 2003; Czepa und Hofmann, 2004] oder mittels externer Kalibrierung durch authentische Standards [Christensen und Kreutzmann, 2007].

### 2.3.7 Nachweis von Polyacetylenen mittels LC-MS

Mit Hilfe der Kopplung aus Flüssigchromatographie und Massenspektrometrie ist vor allem eine Identifikation von Polyacetylenen und weniger eine Quantifizierung durchzuführen. Zum Einsatz kommt diese Analysetechnik zur Identifikation innerhalb der *Apiaceen* besonders bei

deren essbaren Vertretern Sellerie und Möhre [Zidorn et al., 2005; Zidorn et al., 2002]. Durch den Einsatz der Kopplung von HPLC und Tandemmassenspektrometrie (LC-MS-MS) ist eine gezielte Fragmentierung der einzelnen Ionen möglich, sodass eine deutlich höhere Selektivität im Verhältnis zur „einfachen“ HPLC oder HPLC-MS erzielt werden kann. Besonders zeichnet sich diese Kopplungstechnik in Bezug auf die Identifikation von gering konzentrierten Verbindungen und speziellen Verbindungsklassen in komplexen Matrices aus [Hansen-Moeller et al., 2002(a); Haraldsdottir et al., 2002; Manners et al., 2003]. Es ist bisher jedoch nur eine Studie bekannt, in der die LC-MS-MS-Kopplungstechnik zur Identifikation des Falcarinol-Typs in flüssigen Proben biologischer Herkunft zum Einsatz kam [Hansen-Moeller et al., 2002(b)].

### 2.3.8 Nachweis von Polyacetylenen mittels GC

Eine qualitative und quantitative Analytik der Polyacetylene des Falcarinol-Typs mittels GC-FID bzw. GC-MS findet sich nur in wenigen Publikationen [Czepa und Hofmann, 2003; Czepa und Hofmann, 2004; Santos et al., 2005(a); Nitz et al., 1990]. Zur Auftrennung der Polyacetylene wurden vor allem Siloxan-Kapillarsäulen verwendet wie die DB-5, die Rtx-5 und die SE-54 [Czepa und Hofmann, 2003; Czepa und Hofmann, 2004; Santos et al., 2005(a); Nitz et al., 1990]. Eine Quantifizierung der identifizierten Komponenten erfolgte stets mittels entsprechender interner Standards oder nach Kalibration mittels isolierter Einzelkomponenten [Czepa und Hofmann, 2003; Czepa und Hofmann, 2004; Santos et al., 2005(a); Nitz et al., 1990].

Die Durchführung einiger Vorversuche zu den Möglichkeiten des Nachweises von Polyacetylenen mithilfe der Gaschromatographie, speziell der HS-SPME-GC, ergab, dass die verwendeten Polyacetylen-Standardsubstanzen die thermischen Belastungen im Injektorblock nicht überstanden.

### 2.3.9 Nachweis von Polyacetylenen mit Hilfe der Raman-Spektroskopie

Schon 1935 wurden die ersten Analysen von Polyacetylenen mit Hilfe von Raman-Spektroskopie durchgeführt. Dabei handelte es sich um Analysen des Acetylens Carlinaoxid in der Silberdistel (*Carlina acaulis* L. subsp. *acaulis*) [Pfau et al., 1935]. Obwohl Polyacetylene in den meisten Pflanzen nur in geringen Konzentrationen vorkommen (0,01-1,0 mg/100 g Frischmasse), können sie aufgrund ihrer charakteristischen  $C\equiv C$ -Dreifachbindung und den daraus resultierenden starken Banden bei  $2200\text{ cm}^{-1}$  mit Hilfe von FT-Raman-Spektroskopie detektiert werden. Diacetylene verursachen, aufgrund ihres

Symmetriezentrums, eine Raman-Bande bei  $2183\text{ cm}^{-1}$  und eine Infrarotbande bei  $2085\text{ cm}^{-1}$ . Sowohl Art als auch Anzahl der Substituenten im Molekül als auch die Anzahl der  $\text{C}\equiv\text{C}$ -Dreifachbindungen haben einen Einfluss auf die Spektren und die Frequenz [Schrader et al., 2005; Schulz und Baranska, 2007]. Neben dem Spektralbereich, in dem die typischen  $\text{C}\equiv\text{C}$ -Dreifachbindungen liegen, liefert auch das Profil der Raman-Banden in der Regel ausreichend Informationen um nicht nur die Substituenten zu ermitteln, sondern überdies auch noch die einzelnen Polyacetylene zu identifizieren. Die Polyacetylene des Falcarinol-Typs weisen durch ihre  $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}-$ Gruppierung eine asymmetrische sowie eine symmetrische Schwingungsart auf, welche im Bereich von  $2257\text{--}2251\text{ cm}^{-1}$  liegt [Baranska und Schulz, 2005; Lin-Vien et al., 1991]. 2005 untersuchten Baranska und Schulz die Polyacetylene Falcarinol und Falcarindiol und fanden heraus, dass diese üblicherweise zwei überlappende Banden bei  $2258$  und  $2252\text{ cm}^{-1}$  aufweisen. Reines, in Ethanol gelöstes Falcarinol hat seine typische Bande bei  $2258\text{ cm}^{-1}$ . Die Vermutung lag nahe, dass das zweite Signal dem Falcarindiol zugerechnet werden kann. Basierend auf Literaturdaten, welche besagen, dass eine Sauerstoffbindung in  $\alpha$ -Position der Acetylene nur einen geringen Einfluss auf die Frequenz der  $\text{C}\equiv\text{C}$ -Dreifachbindung hat [Lin-Vien et al., 1991], konnte der geringe Unterschied von  $6\text{ cm}^{-1}$  gegenüber dem Falcarinol durch die Tatsache erklärt werden, dass Falcarindiol eine zusätzliche OH-Gruppe aufweist [Baranska und Schulz, 2005]. Durch die Raman- und IR-Aktivität der Polyacetylene Falcarinol, Falcarindiol und Falcarindiol-3-Acetat lassen sich die aus diesen Untersuchungen folgenden Daten sehr gut mit den Daten aus der LC-Analytik verknüpfen und liefern überdies ergänzende Daten zur Identifikation der Polyacetylene.

#### 2.3.10 Probenaufarbeitungs- und Nachweismethoden von Polyacetylenen innerhalb des Instituts für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz Quedlinburg (ÖPV-Q)

In dem ÖPV-Q findet der Nachweis von Polyacetylenen in Karotten durch eine Soxhlet-Apparatur mit nachgeschalteter Analytik mittels HPLC-MS statt. Bei diesem Verfahren werden 5 g frisches Probenmaterial zerkleinert und mit 250 ml n-Hexan in einen Rundkolben überführt. Anschließend erfolgt die Extraktion der Polyacetylene durch die Soxhlet-Apparatur. Nach der Extraktion, welche ca. 2 Stunden dauert, wird das n-Hexan unter Verwendung eines Rotationsverdampfers bei  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  verdampft. Die bis zur Trockne eingeeengte Probe wird in 1 ml Methanol/Wasser (60:40; v/v) unter Verwendung eines Ultraschallbades gelöst und anschließend in ein HPLC-Vial aufgenommen. Nach der Extraktion erfolgt die Analytik mittels HPLC-MS.

### 2.3.11 Nachweis der Polyacetylene nach den Vorschriften des LFGB

In den amtlichen Sammlungen zu den Untersuchungsverfahren nach LFGB sind keine Beschreibungen für Nachweismethoden für den Nachweis von Polyacetylene in Lebensmitteln zu finden.

## 2.4 Zucker in Karotten

Neben den Bitterstoffen und flüchtigen Komponenten sind die Zucker hauptverantwortlich für den charakteristischen Geschmack von Karotten. Glucose, Fructose und Saccharose machen mit mehr als 95 % der freien Zucker in der Karotte die Hauptkomponenten aus. Sie haben einen Anteil an den Speicherkohlenhydraten von 40 – 60 % [Alabran und Mabrouk, 1973; Platenius, 1934; Rygg, 1945]. Glucose und Fructose liegen aufgrund des Gleichgewichts, in welchem beide über eine Lobry de Bryn-Alberda-van-Ekenstein-Umlagerung gebildet werden, zu gleichen Teilen vor [Rygg, 1945; Simon et al., 1980(a)]. Das Verhältnis von Saccharose zu den reduzierenden Zuckern nimmt mit der Reife zu, während es, während der sich anschließenden Ernte und Lagerung wieder abnimmt [Hasselbring, 1927; Phan et al., 1973; Werner, 1941]. Kohlenhydrate werden im Primärstoffwechsel der Pflanze im Zuge der Fotosynthese ( $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_2\text{O} + \text{O}_2$ ) gebildet. Neben den Lipiden, Proteinen und Nucleinsäuren gehören die Zucker zu den lebenswichtigen Verbindungen. Die Einteilung der Kohlenhydrate erfolgt nach der Anzahl der Zuckerbausteine. Somit findet eine Unterteilung in Monosaccharide, welche aus einer Zuckereinheit bestehen, Oligosacchariden, welche aus 2 bis 9 Monosaccharideinheiten bestehen, und den Polysacchariden, welche aus bis zu 1.000 Monosaccharideinheiten bestehen, statt.

### 2.4.1 Monosaccharide

Je nach Art der Carbonylfunktion werden die Monosaccharide in Aldosen (Polyhydroxyaldehyde) und Ketosen (Polyhydroxyketone) eingeteilt. Eine weitere Einteilung findet nach der Anzahl der C-Atome in Triosen, Tetrosen, Pentosen, Hexosen und Heptosen statt. Von einer besonderen biologischen Relevanz sind vor allem die Pentosen und Hexosen, da diese die Möglichkeit zum Ringschluss haben. Mehr als 200 verschiedene Monosaccharide sind bisher in der Natur entdeckt worden. Die wichtigsten Vertreter der Monosaccharide sind die beiden Hexosen Glucose und Fructose.

### 2.4.2 Disaccharide

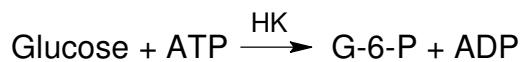
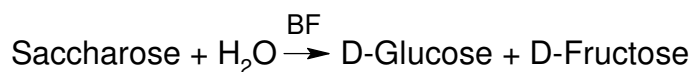
Die Disaccharide gehören zur Gruppe der Oligosaccharide. Sie bestehen aus zwei Monosaccharideinheiten und unterscheiden sich durch die unterschiedlich miteinander verknüpften Monosaccharide und deren Verknüpfungsart. Die Verknüpfung der beiden Zucker kann entweder zwischen den glykosidischen OH-Gruppen oder zwischen einer glykosidischen OH-Gruppe und einer alkoholischen OH-Gruppe des zweiten Monosaccharides erfolgen. Am häufigsten findet sich bei der Glykosidbindung von Oligo- und Polysacchariden die 4-Hydroxyfunktion (1→4), weniger jedoch die (1→6)-, (1→3)- oder die (1→2)-Verknüpfung. Die glykosidische Bindung und auch das anomere Hydroxyl des zweiten Monosaccharides können  $\alpha$ - oder  $\beta$ -konfiguriert sein, womit zwei anomere Disaccharide möglich sind. Bleibt die Halbacetalgruppierung erhalten, so besitzt das Disaccharid reduzierende Eigenschaften, es bildet Osazone und zeigt Mutarotation. Findet die Verknüpfung über beide halbacetalischen OH-Gruppen statt, ist das Disaccharid nicht reduzierend. Zu den Disacchariden gehören z. B. die Saccharose, Lactose, Maltose und Cellobiose. Wie fast alle Gemüsearten enthält auch die Karotte hauptsächlich die beiden Monosaccharide Glucose und Fructose sowie das Disaccharid Saccharose. Bei den Monosacchariden liegt der Glucosegehalt geringfügig höher als der Fructosegehalt. Der Gesamtzuckergehalt in Karotten schwankt [Heilpflanzen-Welt, 2010].

### 2.4.3 Allgemeine Nachweismethoden für Monosaccharide

Für den chemischen Nachweis von Monosacchariden gibt es unterschiedliche Methoden. Eine der zwei „klassischen“ Nachweismethoden ist die reduktometrische Bestimmung nach Luff-Schoorl. Diese wird angewendet, um den Gesamtzuckergehalt in Lebensmitteln (LM) zu bestimmen. Sie ist speziell für den Nachweis von reduzierenden Zuckern ausgelegt. Bei der zweiten „klassischen“ Methode werden D-Glucose und D-Fructose durch eine enzymkatalysierte Reaktion, an welcher ATP (Adenosin-5'-Triphosphat) und HK (Hexokinase) beteiligt sind, phosphoryliert (LFGB § 64). Die genaue Methode ist am Ende dieses Kapitels erläutert. Die gegenwärtig am weitesten verbreitete Analysemethoden von Monosacchariden ist die Analytik mittels DC, GC oder LC. Eine deutlich ungenauere, jedoch in der Praxis vielfach angewendete Methode für den Nachweis von Zuckern in Karotten, welche im Bereich der Vorernteuntersuchung, Qualitätskontrolle oder Züchtung Anwendung findet, ist die refraktometrische Ermittlung des Gesamtzuckergehalts in der Maßeinheit Brix. Hierbei wird die durch die Menge der in der Probe gelösten Trockensubstanz (lösliche Zucker) verursachte Lichtbrechung in das Verhältnis zur Lichtbrechung von destilliertem Wasser gesetzt.

#### 2.4.4 Nachweismethode des Saccharosegehalts in Frucht- und Gemüsesäften nach LFGB

Für die Ermittlung des Saccharosegehalts in Frucht- und Gemüsesäften nach § 64 LFGB wird ein enzymatisches Nachweisverfahren verwendet. Hierbei wird in einer verdünnten Untersuchungsprobe die Saccharose durch  $\beta$ -Fructosidase (BF) enzymatisch in gleichen Mengen D-Glucose und D-Fructose hydrolysiert. Die gebildete D-Glucose wird mittels einer enzym-katalytischen Reaktion, an welcher Adenosin-5'-Triphosphat (ATP) und die Hexokinase (HK) beteiligt sind, in der C-6-Stellung phosphoryliert. In einer Begleitreaktion wird Glucose-6-Phosphat (G-6-P) in Anwesenheit von  $\beta$ -Nicotinamin-Adenin-Dinucleotidphosphat (NADP) und durch das Enzym Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH) in G-6-P stöchiometrisch umgewandelt. Hierbei ist die gebildete Menge NADPH dem D-Glucosegehalt in der untersuchten Probe, wie in der folgenden Formel dargestellt, äquivalent.



Formel 2-4-1: Formel für die Saccharosebestimmung nach Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB [Amtliche Sammlung nach § 64 LFGB, Stand: September 1997]

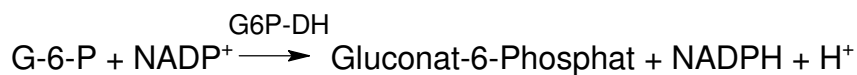
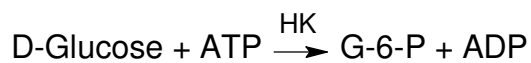
Die quantitative Bestimmung des gebildeten NADPH, also des D-Glucose- und Saccharosegehalts, erfolgt spektralfotometrisch.

In Säften mit einem Saccharosegehalt < 5 g/l und einem höheren Gehalt an Glucose ist eine enzymatische Bestimmung des Saccharosegehalts nicht möglich. In solchen Fällen soll vor der quantitativen Bestimmung des Saccharosegehalts die Glucose durch Reaktion mit Iod bei alkalischem pH-Wert entfernt werden (Quelle: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB (vormals § 35 LMBG) Band I L26.26-18, Enzymatische Bestimmung des Saccharosegehaltes in Gemüsesäften – Spektralphotometrisches Verfahren; Stand September 1997, <http://www.methodensammlung-bvl.de>).



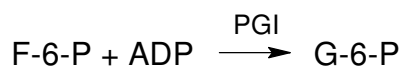
### 2.4.5 Nachweismethode für D-Glucose und D-Fructose in Frucht- und Gemüsesäften nach LFGB

Für den amtlichen Nachweis von D-Glucose und D-Fructose werden beide in C-6-Position durch eine enzymatische Reaktion, an welcher ATP und HK beteiligt sind, phosphoryliert. In einer Begleitreaktion wird Glucose-6-Phosphat in Anwesenheit von NADP durch das Enzym G6P-DH in Gluconat-6-phosphat stöchiometrisch umgewandelt. Hierbei entspricht, wie aus der im Folgenden dargestellten Formel ersichtlich, die Menge an NADPH dem D-Glucosegehalt in der untersuchten Probe.



Formel 2-4-2: Reaktion für die D-Glucosebestimmung nach Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB [Amtliche Sammlung nach § 64 LFGB (Stand: Januar 1997)]

Der D-Fructosegehalt in der Probe kann durch eine zusätzliche Reaktion, der Isomerisierung von Fructose-6-phosphat zu Glucose-6-Phosphat, bestimmt werden. Diese Reaktion wird mithilfe der Phosphoglucose-Isomerase (PGI) nach der im Folgenden dargestellten Formel durchgeführt. Die quantitative Bestimmung des gebildeten NADPH und damit bedingt des Gehalts an D-Glucose und/oder D-Fructose erfolgt spektralfotometrisch.



Formel 2-4-3: Reaktion für die D-Fructosebestimmung nach Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB [Amtliche Sammlung nach § 64 LFGB (Stand: Januar 1997)]

## 2.5 Flüchtige Inhaltsstoffe

Unter dem Begriff der "flüchtigen Inhaltsstoffe" finden sich insbesondere die zu den sekundären Pflanzeninhaltsstoffen zählenden Terpene. Die Gruppe der Terpene stellt in Bezug auf ihre Chemie und Struktur eine sehr vielfältige Stoffklasse dar [Sacchetti und Poulter, 1997]. Zurzeit sind etwa 35.000 unterschiedliche Terpene identifiziert [Rohdich et al., 2004], welche sowohl in Pro- als auch in Eukaryonten vorkommen. Prinzipiell leiten sich alle Terpene von C<sub>5</sub>-Isopren-Grundeinheiten ab, weshalb die Terpene auch als Isoprene oder Isoprenoide bezeichnet werden. Nach der Anzahl an Isoprengrundeinheiten werden die Terpene in unterschiedliche Gruppen eingeteilt. Diese beinhalten die Monoterpene (C<sub>10</sub>, 2 Isopreneinheiten), Sesquiterpene (C<sub>15</sub>, 3 Isopreneinheiten), Diterpene (C<sub>20</sub>, 4 Isopreneinheiten), Sesterpene (C<sub>25</sub>), Triterpene (C<sub>30</sub>), Tetraterpene (C<sub>40</sub>) und Polyterpene (C<sub>5</sub>)<sub>n</sub> (Tabelle 2-5-1 und Abbildung 2-5-2). Die einzelnen Isopentenyl-Einheiten sind entweder Kopf-Schwanz- oder Kopf-Kopf-verknüpft (Abbildung 2-5-1).

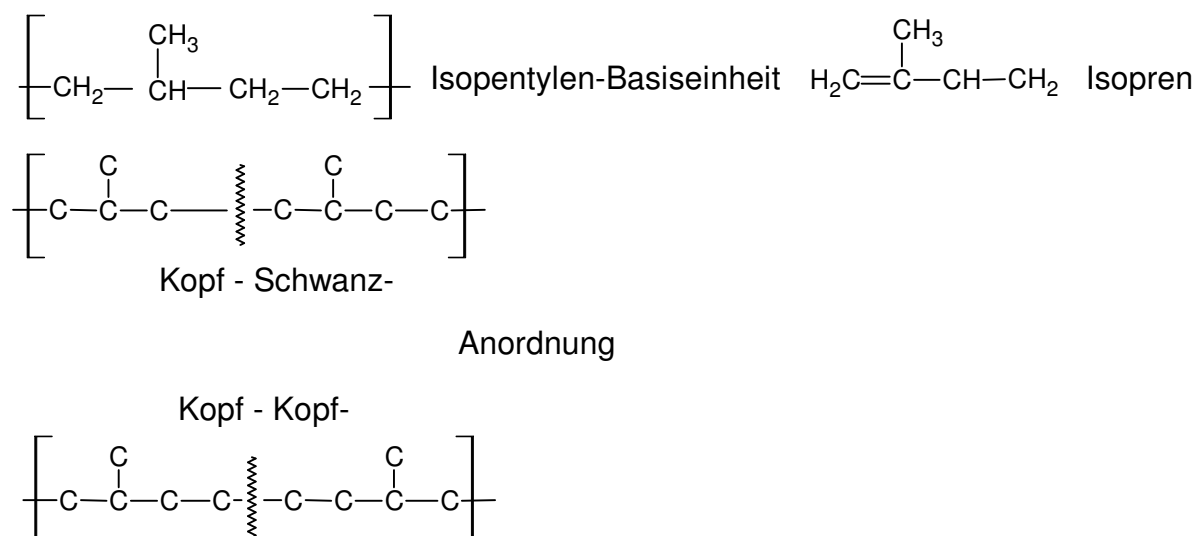


Abbildung 2-5-1: Verknüpfungsmöglichkeiten der Isoprengrundeinheiten über Kopf-Schwanz oder Kopf-Kopf nach Vostrowsky, 2010 [Vostrowsky, 2010]

Tabelle 2-5-1: Schema der Terpenoidfamilie nach Schopfer und Brennicke, 2006 [Schopfer und Brennicke, 2006]

Klasse	Summenformel	Beispiele (einschließlich abgeleiteter Produkte)
Semiterpene	$C_5H_8$	Isopentenylidiphosphat "aktives Isopren" (Isopren, Cytokinine)
Monoterpene	$C_{10}H_{16}$	Geraniol (Menthol, Kampfer, Pinen, Citronellal)
Sesquiterpene	$C_{15}H_{24}$	Farnesol (Zingiberen, Ubichinon, Plastochinon, Rishitin)
Diterpene	$C_{20}H_{32}$	Geranylgeraniol (Phytol, Tocopherol, Gibberellinsäure, Fusicoccin)
Triterpene	$C_{30}H_{48}$	Squalen (Steroide, Saponine, Brassinolide)
Tetraterpene	$C_{40}H_{64}$	Phytoen, Carotine, Abscisinsäure
Polyterpene	$(C_5H_8)_n$	Kautschuk, Guttapercha

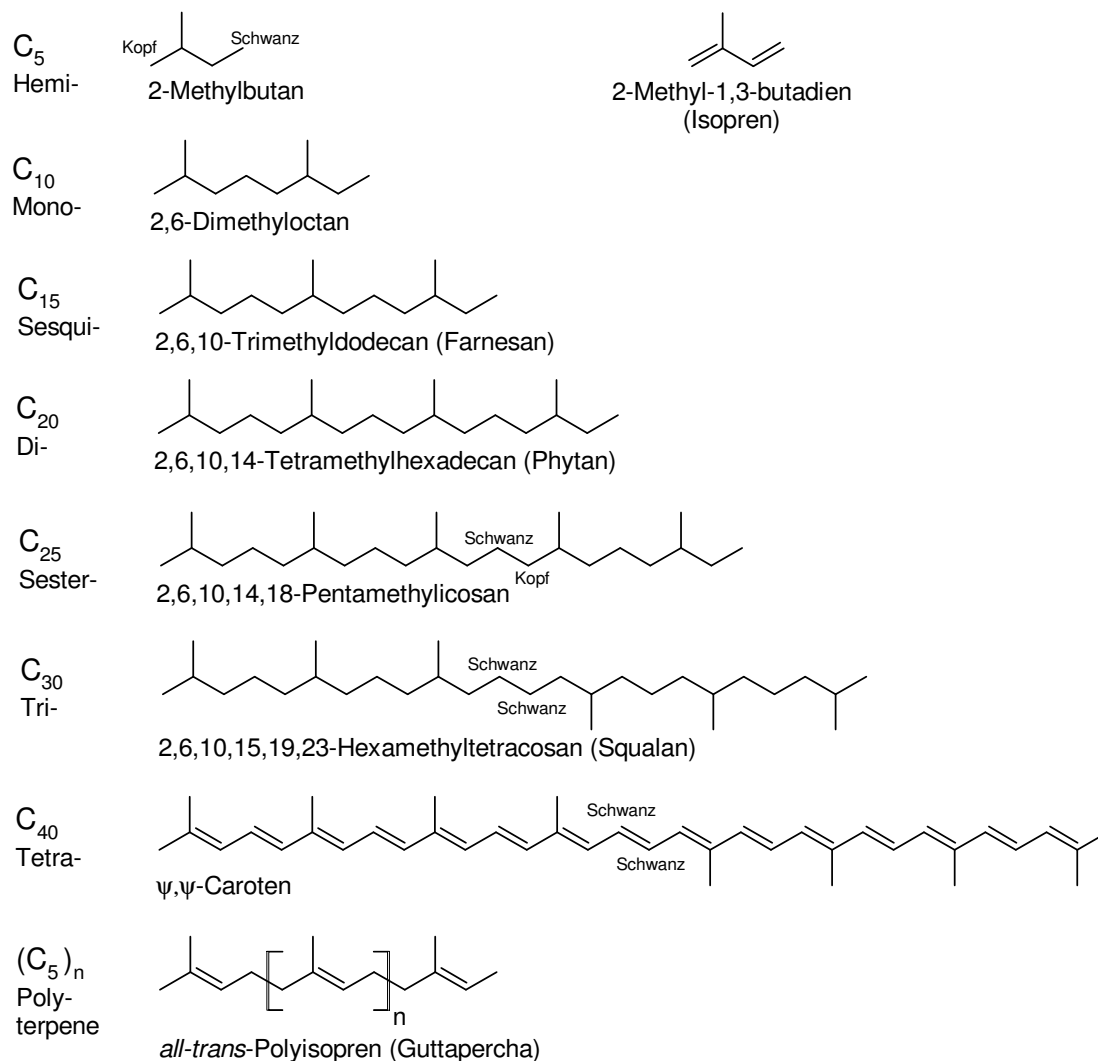


Abbildung 2-5-2: Stammkohlenwasserstoffe der Terpene nach Breitmaier, 2004 [Breitmaier, 2004]

Viele Terpene sind Kohlenwasserstoffe, es finden sich jedoch auch sauerstoffhaltige Verbindungen wie z. B. Alkohole, Aldehyde und Ketone (Terpenoide). Die große Vielfalt an Terpenen steht in starkem Gegensatz zu ihren Biosynthesewegen, welche von nur zwei Vorstufen ausgehen.

#### 2.5.1 Flüchtige Inhaltsstoffe in *Daucus carota* L.

Flüchtige Inhaltsstoffe gehören zu den bedeutendsten Vertretern der sekundären Inhaltsstoffe der Möhre. Dies ist zum einen auf die geruchs- und geschmacksgebenden Eigenschaften zurückzuführen, zum anderen auf ihr bioaktives Potenzial. Der geschmackliche Eindruck bei der Möhre wird durch das Verteilungsmuster von drei Hauptkomponenten geprägt: Zuckergehalt, Aromastoffspektrum sowie Bitterstoffgehalt. Bisher konnten bei rohen Möhren mehr als 90 Aromakomponenten identifiziert werden [Simon et al., 1980(b); Seljåsen et al., 2001(a); Rosenfeld et al., 2002; Varming et al., 2004; Alasalvar et al., 2001; Howard et al., 1995; Shamaila et al., 1996; Alasalvar et al., 1999; Kjeldsen et al., 2001; Kjeldsen et al., 2003; Buttery et al., 1968; Yoo et al., 1997; Habegger und Schnitzler, 2005]. Dabei stellte sich heraus, dass das Aromastoffmuster bei Möhren zwischen den einzelnen Genotypen erheblich variiert [Kjeldsen et al., 2001]. Im Aromastoffspektrum der frischen Möhre finden sich vor allem Mono- und Sesquiterpene (Abbildung 2-5-3 und 2-5-4) als Hauptkomponenten, welche mit bis zu 98 % des Gesamtgehalts der Terpene in der Karotte repräsentieren [Simon et al., 1980(b); Howard et al., 1995; Shamaila et al., 1996; Alasalvar et al., 1999; Kjeldsen et al., 2001]. Das Muster der flüchtigen Inhaltsstoffe in der Karotte wird weitestgehend durch den Genotyp beeinflusst [Kjeldsen et al., 2001]. Ausgehend von Untersuchungen, welche innerhalb des ÖPV-Q durchgeführt wurden, konnte eine genetisch bedingte Variation der Terpenoide sowohl im quantitativen als auch im qualitativen Gehalt in den Karotten festgestellt werden.

Es konnten jedoch auch geringe Mengen irregulärer Terpene gefunden werden. Aufgrund der hohen prozentualen Anteile der Mono- und Sesquiterpene wird das Augenmerk im Folgenden ausschließlich auf diese Verbindungen gelegt.

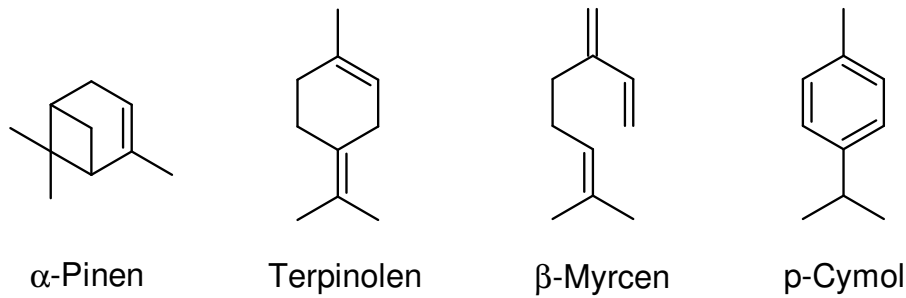


Abbildung 2-5-3: Monoterpene, identifiziert in Karotten nach Kreutzmann, 2007 [Kreutzmann, 2007(a)]

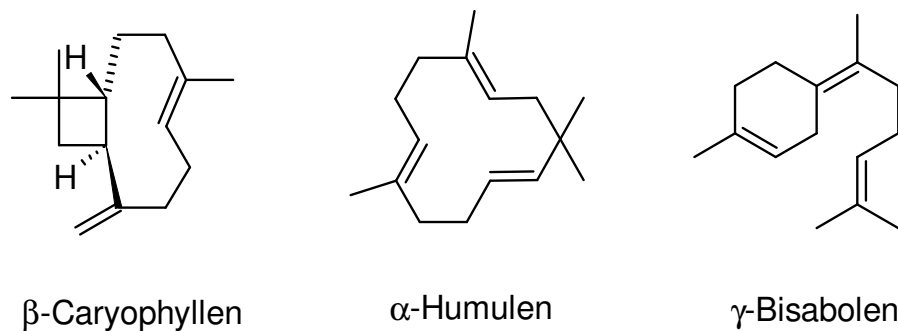


Abbildung 2-5-4: Sesquiterpene, identifiziert in Karotten nach Kreutzmann, 2007 [Kreutzmann, 2007(a)]

### 2.5.2 Biosynthesewege der Terpene

Terpene, welche in der Karotte hauptverantwortlich für den Geruch und mitverantwortlich für den Geschmack sind, werden hauptsächlich durch Katabolismus und/oder Autoxidation gebildet. Sowohl die Mono- als auch die Sesquiterpene werden durch anabolische Prozesse gebildet und sind aus diesem Grund in gesunden/intakten Zellen, welche in der Lage zur Fotosynthese sind, vorhanden [Loomis und Croteau, 1980]. Sie sind für den Prozess der Fotosynthese essenziell. Zu diesen essenziellen Di- und Tertraterpenen gehören die Carotine (Tetraterpene) und das  $\alpha$ -Tocopherol (Diterpene, Seitenkette) [Lichtenthaler und Park, 1963]. 2005 stellten Hampel et al. fest, dass sowohl in den Blättern als auch in der Karottenwurzel Biosyntheseaktivitäten für Terpene zu finden sind [Hampel et al., 2005]. Daraus schlossen sie, dass Karottenblätter und Karottenwurzeln unabhängig voneinander Terpene bilden können. Überdies fanden sie heraus, dass bei den Karottenwurzeln die Biosynthese der Terpene hauptsächlich im Phloem und nicht im Xylem stattfindet. Dies ergab sich aus den hohen Konzentrationen an Terpenen in Phloem im Gegensatz zu denen im Xylem.

Die beiden Biosynthesewege von Terpenen sind zum einen der Acetat/Mevalonat-Säure-Weg (MVA) (Abbildung 2-5-5), welcher zum ersten Mal 1958 von Conrad Bloch und Feodor Lynen beschrieben wurde [Spurgeon und Porter, 1981; Lichtenthaler et al., 1997(a); Lichtenthaler, 1999], zum anderen der 35 Jahre später entdeckte Mevalonat-unabhängige 1-Desoxy-D-Xylulose-5-Phosphat/2-C-Methyl-D-Erythritol-4-Phosphat-(DOXP/MEP-) Weg (Abbildung 2-5-6) [Hampel et al., 2005; Eisenreich et al., 2001; Arigoni et al., 1997]. Der DOXP/MEP-Weg wurde bisher in Pflanzen [Schwender et al., 1995; Lichtenthaler et al., 1996; Lichtenthaler et al., 1997(b)], fast allen Algen und einigen Bakterienarten (z. B. *Escherichia coli*) sowie im Malariaerreger *Plasmodium falciparum* nachgewiesen [Lichtenthaler, 1999]. Die Produkte aus den beiden Synthesewegen, die Mevalonatsäure aus dem MVA und das Desoxyxylulosephosphat (DOXP) aus dem DOXP/MEP-Weg, sind Vorstufen der beiden Grundbausteine, aus welchen alle Terpene aufgebaut sind, den C5-Isopreneinheiten, Isopentenylidiphosphat (IPP) und seinem Isomer, dem Dimethylallyldiphosphat (DMAPP). In der Abbildung 2-5-7 ist ein vereinfachtes Schema der Biosynthese der Terpene aufgezeigt. Hampel et al. zeigten 2005 [Hampel et al., 2005], dass die Monoterpene in Karotten ausschließlich durch den DOXP/MEP-Weg synthetisiert werden, wohingegen Sesquiterpene sowohl durch den MVA- als auch durch den DOXP/MEP-Weg synthetisiert werden können. Die Lokalisierung der beiden Synthesewege in der Pflanze haben Aharoni et al. 2004 in einem Schaubild dargestellt (Abbildung 2-5-8), welches 2006 durch Pichersky et al. überarbeitet wurde (Abbildung 2-5-9) [Pichersky et al., 2006]. So werden nach Aharoni das GPP (C10) und das FPP (C15), die Grundbausteine für die weitere Biosynthese der Mono- und Sesquiterpene, im Plastid und im Cytosol gebildet [Aharoni et al., 2004]. Die weitere Synthese zu den einzelnen Mono- und Sesquiterpenen findet für die Monoterpene im Plastid, für die Sesquiterpene im Cytosol statt. Die Bildung einiger irregulärer Terpene kann nicht durch den anabolischen Syntheseweg der Pflanzen beschrieben werden. Diese Terpenoide entstehen bei der oxidativen Degeneration von Carotinoiden. Die oxidative Degeneration der Carotinoide ähnelt dem oxidativen Abbau von ungesättigten Fettsäuren. Ebenso wie beim oxidativen Abbau ungesättigter Fettsäuren geschieht ein solcher Abbau bei den Carotinoiden immer dann, wenn das Pflanzengewebe verletzt wurde oder bei der Seneszenz. Die Anwesenheit derartiger flüchtiger Abbauprodukte in den unterschiedlichen Genotypen setzt die vorherige Anwesenheit von Carotinoiden voraus [Aguedo et al., 2004; Crouzet, 2000].

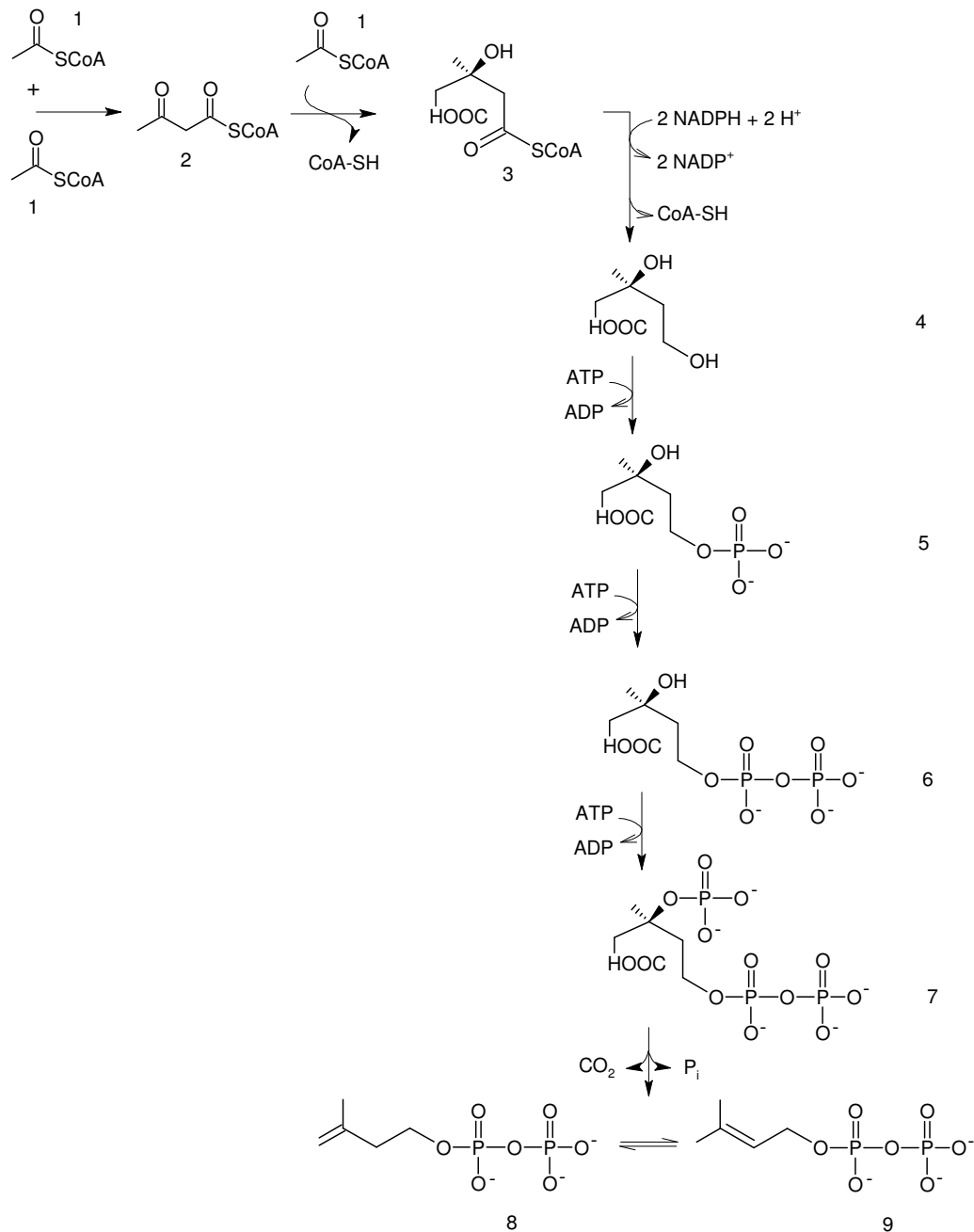


Abbildung 2-5-5: Acetat-Mevalonat-Weg nach Alpermann, 2006 [Alpermann, 2006]

- 1.) Acetyl-CoA
- 2.) Acetoacetyl-CoA
- 3.) 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA (HMG-CoA)
- 4.) Mevalonsäure
- 5.) 5-Phosphomevalonsäure
- 6.) 5-Pyrophosphomevalonsäure
- 7.) 3-Phospho-5-Phosphomevalonsäure
- 8.) Isopentenylidiphosphat (IDP)
- 9.) Dimethylallyldiphosphat (DMADP)

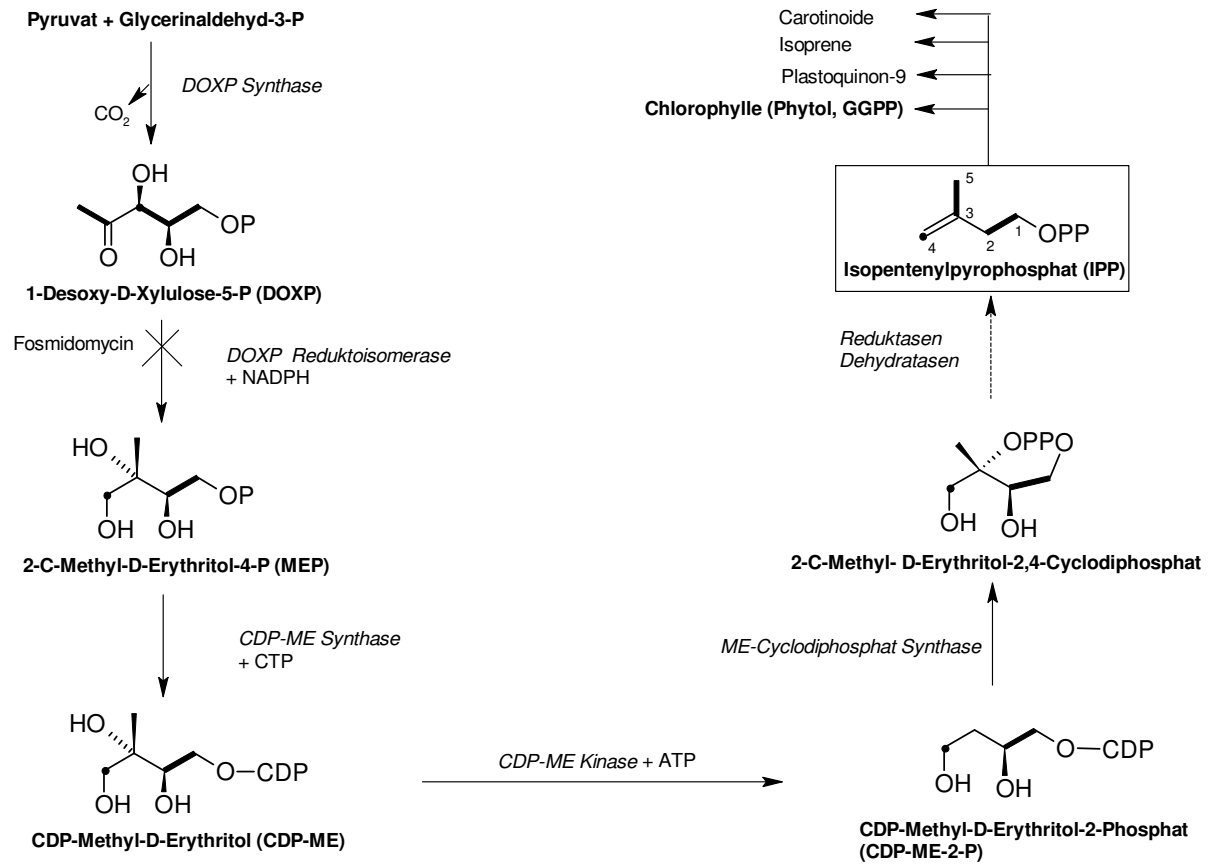


Abbildung 2-5-6: DOXP/MEP-Synthese-Weg der IPP-Biosynthese in den Plastiden von Pflanzen nach Schmid, 2003 [Schmid, 2003]



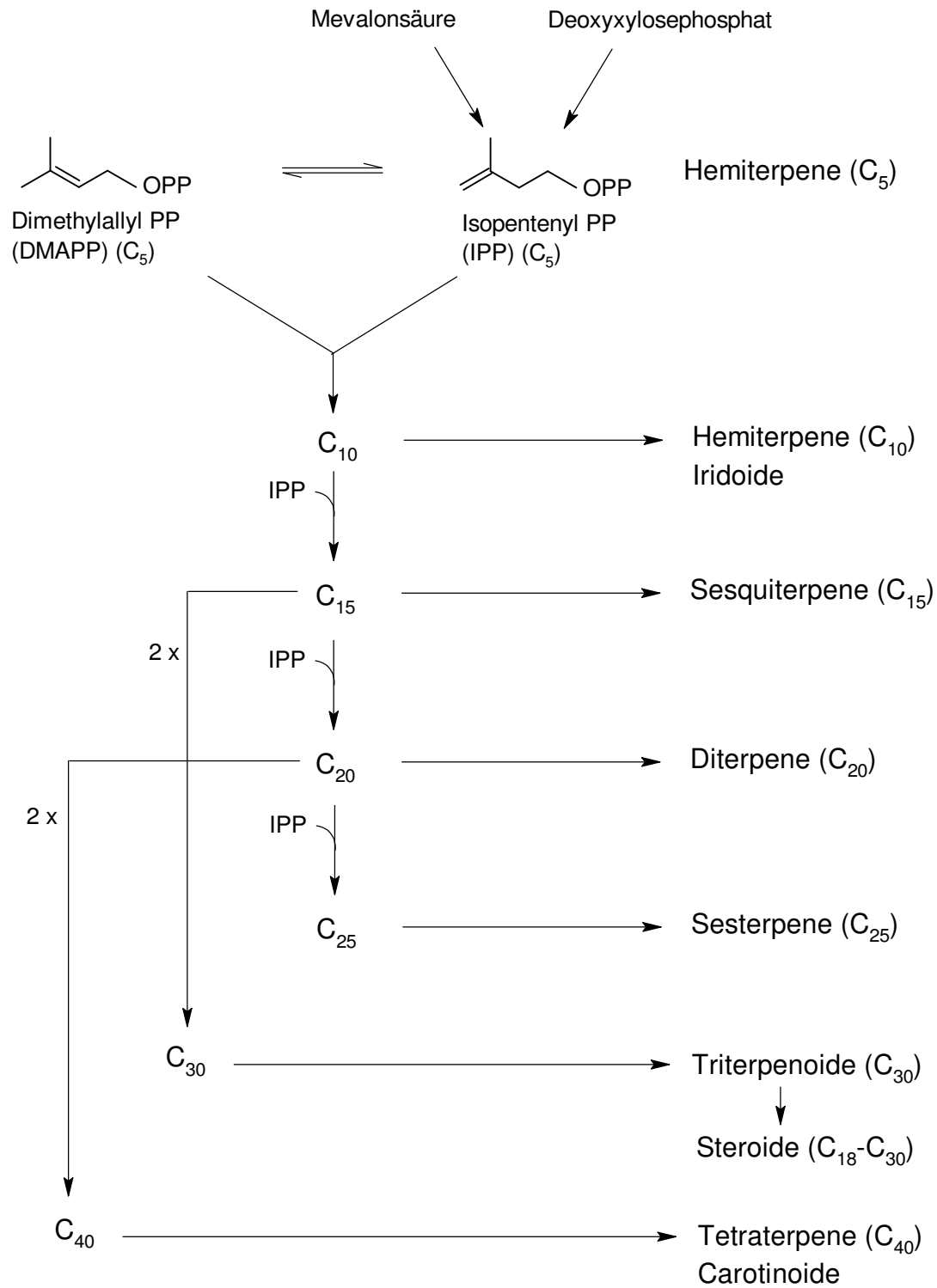


Abbildung 2-5-7: Biosynthesewege von Terpenen aus Dimethylallylpyrophosphat (DMAPP) und Isopentenylidiphosphat (IPP) nach Dewick, 2002 [Dewick, 2002]

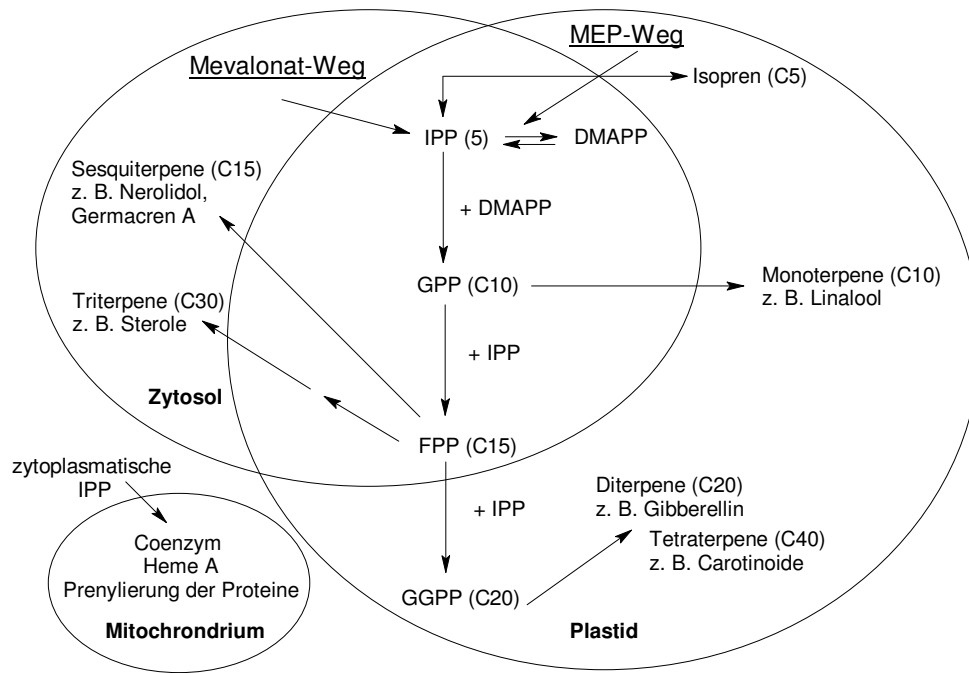


Abbildung 2-5-8: Lokalisation der Isoprenoidbiosynthese in den verschiedenen Teilen der pflanzlichen Zelle nach Aharoni et al., 2004 [Aharoni et al., 2004]

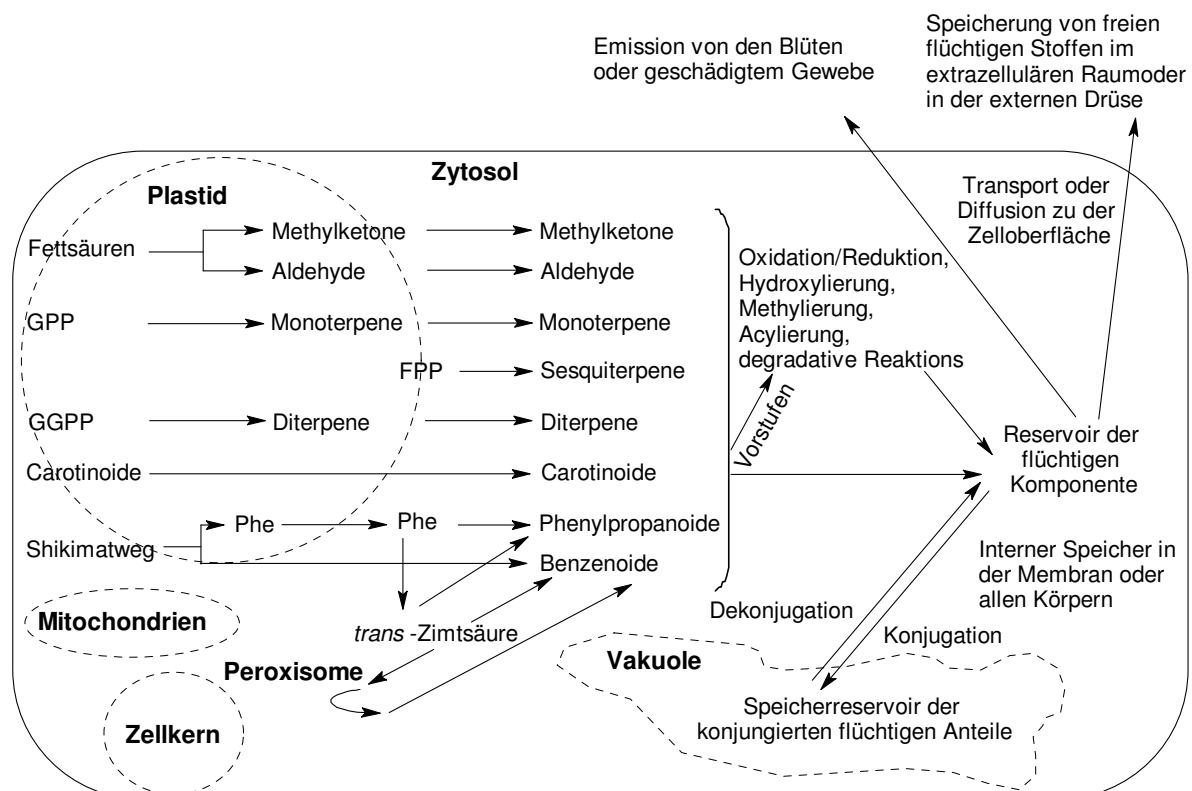


Abbildung 2-5-9: Zusammenfassung der zellinternen Prozesse für die Synthese der flüchtigen Inhaltsstoffe in der Pflanze nach Pichersky et al., 2006 [Pichersky et al., 2006]

### 2.5.2.1 Der Acetat-/Mevalonat-Weg (MVA-Weg)

Das Isopentenylpyrophosphat (IPP) sowie sein Isomer, das 3,3-Dimethylallyldiphosphat (DMAPP), sind die C<sub>5</sub>-Grundbausteine aller Isoprenoide. Ihre Bildung über den Acetat-Mevalonat-Biosyntheseweg, welcher aus dem Tierreich und bei Hefen bekannt ist, wurde auch bei Pflanzen gefunden (Abbildung 2-5-5) [Goodwin, 1977; Bach und Lichtenthaler, 1983(a); Bach und Lichtenthaler, 1983(b); Bach und Lichtenthaler, 1987; Gershenzon und Croteau, 1993]. Basierend auf den Untersuchungen von Bloch, Lynen und Cornforth, welche sich mit dem Syntheseweg von Cholesterol beschäftigten, wurde der Acetat-Mevalonat-Weg (MVA-Weg) entschlüsselt.

Zu Beginn des MVA-Weges reagieren zwei Moleküle Acetyl-CoA in einer Claisen-Kondensation, katalysiert durch Thiolase, zu dem Zwischenprodukt Acetoacetyl-CoA. Im zweiten Schritt wird, mittels einer Katalysierung durch die 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA-Synthase, ein weiteres Molekül Acetyl-CoA an das Zwischenprodukt Acetoacetyl-CoA kondensiert, was zur Bildung der C<sub>6</sub>-Verbindung 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) führt. In dem nächsten Schritt wird die HMG-CoA, durch die HMG-CoA-Reduktase, zu Mevalonsäure reduziert. Dieser Schritt findet in der Medizin große Aufmerksamkeit. Durch die Hemmung der Reduktase mittels Präparaten wie dem Simvastatin, Lovastatin und ähnlichen ist es möglich, den Cholesterolspiegel im Blut zu senken, da die Reduktase das Schlüsselenzym innerhalb des Reaktionsweges zum Cholesterol ist. In den folgenden Schritten des MVA-Weges werden aus ATP-Molekülen stammende Phosphatgruppen auf das Mevalonat übertragen. Durch die anschließende Eliminierung einer Phosphatgruppe, bei gleichzeitiger Decarboxylierung des Zwischenproduktes 3-Phospho-5-Diphosphomevalonsäure, wird eine Doppelbindung ausgebildet und es entsteht Isopentenylidiphosphat (IPP). Dessen Isomer (Abbildung 2-5-10) ist das Dimethylallyldiphosphat (DMAPP), somit liegen beide aktivierten Isopreneinheiten vor [Bochar et al., 1999]. Durch eine Kupplung der beiden aktiven Isopreneinheiten, dem IPP und DMAPP, entsteht das Geranylpyrophosphat (ein Hemiterpen C<sub>10</sub>) (Abbildung 2-5-11), aus welchem die unterschiedlichsten Monoterpene und durch Addition von IPP anschließend Sesquiterpene, Diterpene, Sesterpene bis hin zu den Tetraterpenen entstehen (Abbildung 2-5-7).

### Baukastenprinzip

- IPP = nucleophil (elektronenreiche DB)
- DMAPP = electrophil (allylische Abgangsgruppe)
- Carbokation-Intermediat
- Enzym: Isomerase

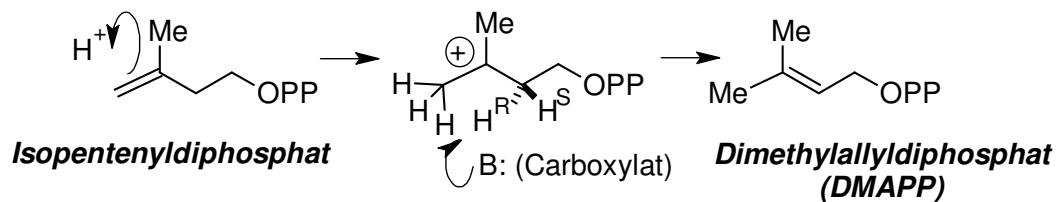


Abbildung 2-5-10: Isomerisierung von IPP und DMAPP nach Maier, 2010 [Maier, 2010]

### Geranyldiphosphat (GPP)

- C<sub>10</sub> Körper
- Edukt der Monoterpene

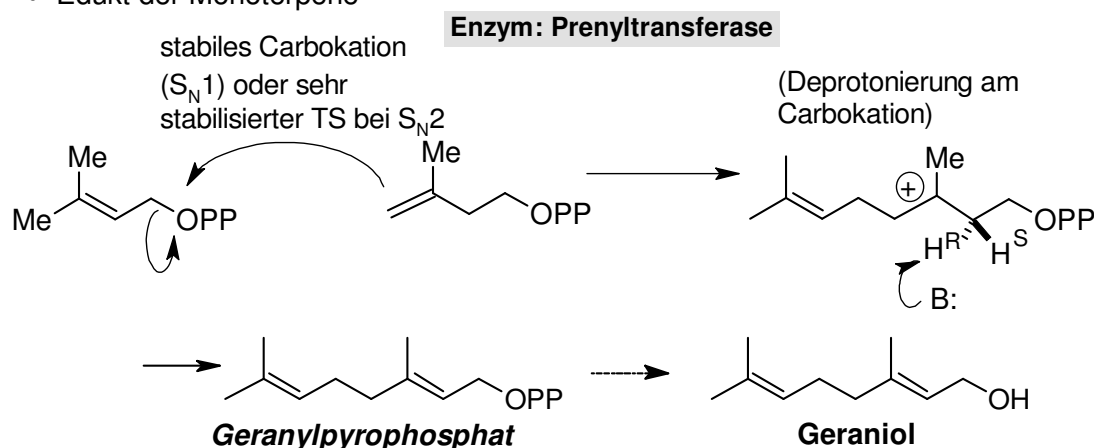


Abbildung 2-5-11: Kupplung von DMAPP und IPP nach Maier, 2010 [Maier, 2010]

### 2.5.2.2 Der DOXP/MEP-Weg

Der DOXP/MEP-Weg (Abbildung 2-5-6) startet mit der Bildung von 1-Desoxy-D-Xylulose-5-Phosphat (DOXP) aus Pyruvat und Glycerinaldehyd-3-Phosphat. Dies geschieht unter dem Einfluss der DOXP-Synthase, welche in den Chloroplasten lokalisiert ist. Im zweiten Schritt wird aus DOXP durch C-C-Isomerisierung und Reduktion das 2-C-Methyl-D-Erythritol-4-Phosphat (MEP). Dieser Schritt erfolgt durch die Reduktoisomerase. Aus dem MEP wird, durch die Reaktion mit Cytidintriphosphat (CTP), mittels CDP-ME Synthase das 4-(Cytidin 5'-Diphospho)-2-C-Methylethritol (CDP-ME) katalysiert [Rohdich et al., 1999; Kuzuyama et al., 2000(a)]. Im vierten Schritt wird unter dem Einfluss der CDP-ME Kinase, in einer ATP-



## 2.5 3 Mono- und Sesquiterpene

### 2.5.3.1 Monoterpene

Bei den Monoterpenen sind die meisten Verbindungen auf das Geranylpyrophosphat (GPP) bzw. auf das Geranylcarbeniumion zurückzuführen [Abbildungen 2-5-7, 2-5-11 und 2-5-13]. Durch eine Reihe verschiedener Umlagerungs- und Folgereaktionen entstehen acyclische und cyclische Verbindungen.

Zu der Gruppe der acyclischen Monoterpene zählen z.B. Kohlenwasserstoffe wie Myrcen oder (Z)- und (E)-Ocimen, Alkohole (wie Geraniol, Nerol und Linalool), Aldehyde wie Geranial, Neral und Citronellal sowie die Geraniumsäure.

Die Gruppe der cyclischen Monoterpene umfasst wiederum die Untergruppen der monocyclischen, bicyclischen und tricyclischen Monoterpene. Die monocyclischen Monoterpene lassen sich auf den Grundkörper, das p-Menthan, zurückführen. Wichtigste Vertreter dieser Gruppe sind die Menthadien-Kohlenwasserstoffe  $\alpha$ -Terpinen,  $\gamma$ -Terpinen, Limonen, Terpinolen,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Phellandren sowie das p-Cymol.

Die Vertreter der Gruppe der bicyclischen Monoterpene lassen sich alle auf die Kohlenwasserstoffgrundkörper Thujan, Caran, Pinan, Camphan, Isobornal, Isocamphan und Fenchan zurückführen.

Das einzige bekannte tricyclische Monoterpen ist das Tricyclen, welches in Nadelholz-Öl vorkommt.

### 2.5.3.2 Sesquiterpene

Die Gruppe der Sesquiterpene umfasst mehr als 2.000 Vertreter und ist damit die größte Gruppe bei den Isoprenoiden. Obwohl ca. 500 Sesquiterpene in Aromen und Gerüchen nachgewiesen werden konnten, besitzen nur ca. 20 von ihnen eine olfaktorische und gustatorische Bedeutung. Wie bei den Monoterpenen lassen sich auch die Sesquiterpene in acyclische und cyclische Gruppen unterteilen. Zusätzlich gibt es jedoch bei den Sesquiterpenen noch die Gruppe der Norsesquiterpene und der Sesquiterpenlactone.

Sesquiterpene ( $C_{15}$ , 3 Isopreneinheiten) werden durch die Addition einer weiteren Isopreneinheit an Geranylpyrophosphat (GPP) gebildet. Dabei entsteht das Farnesylpyrophosphat (FPP) als Vorstufe für die Sesquiterpene.

### Acyclische Sesquiterpene

Zu der Gruppe der acyclischen Sesquiterpene gehören lange bekannte Vertreter wie das Farnesol, Nerolidol und Farnesal, allerdings auch erst in neuerer Zeit bekannt gewordene Sesquiterpene wie die Gruppe der Farnesene und die der Sinensale.

### Monocyclische Sesquiterpene

Aus dem acyclischen FPP entstehen durch Pyrophosphatabspaltungen nicht-klassische Carbeniumionen, welche durch Cyclisierung zu monocyclischen Carbokationen mit 6-gliedriger Bisabolan-, 10-gliedriger Germacran und 11-gliedriger Humulanstruktur reagieren. Durch Hybrid- und Methylverschiebungen, Cyclisierungen, WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung mit anschließender Protoneneliminierung oder Hydroxyladdition werden die unterschiedlichen Sesquiterpenkohlenwasserstoffe und Sesquiterpenalkohole ausgebildet. Zu den monocyclischen Sesquiterpenen gehören z. B.  $\alpha$ -Bisabolen,  $\beta$ -Curcumen, Germacran und Humulen.

### Bicyclische Sesquiterpene

Zu den bicyclischen Sesquiterpenen gehört unter anderem das Caryophyllen, die Cardinene und die Sesquiterpene des Eudesman- und Eremophilantyps.

### Tricyclische Sesquiterpene

Zu den tricyclischen Sesquiterpenen gehören z. B. Cubebencampher, Aristolon,  $\alpha$ -Cedren und  $\alpha$ -Burbonen.

### Norsesquiterpene

Zu den Norsesquiterpenen gehören das Norpatchoulol, welches in Patchouliöl zu finden ist, und die Vitispirane, welche als Aromakomponenten unter anderem in Vanille, Weintrauben und Honig nachgewiesen wurden.

### Sesquiterpenlactone

Die Vertreter der Sesquiterpenlactone haben sehr häufig pharmakologische und biologische Wirkung. Die meisten von ihnen besitzen eine  $\alpha$ -Methylen- $\gamma$ -Lacton- oder eine  $\alpha$ -Methyl- $\gamma$ -Lacton-Struktur. Zu den Sesquiterpenlactonen gehört u.a. das Gujanolid, Matrizin, Eupatolid und das giftige Tutin [Vostrowsky, 2010].

## 2.5.4 Terpenmuster in Karotten

Das typische Karottenaroma kann auf die Komposition verschiedener flüchtiger Inhaltsstoffe zurückgeführt werden. Zu den Schlüsselkomponenten roher Karotten gehören:  $\alpha$ -Pinen,

Sabinen, Myrcen, Limonen,  $\gamma$ -Terpinen, p-Cymen, Terpinolen,  $\beta$ -Caryophyllen,  $\alpha$ -Humulen, (E)- $\gamma$ -Bisabolen und  $\beta$ -Ionon (Abbildung 2-5-3 und 2-5-4) [Shamaila et al., 1996; Alasalvar et al., 1999; Kjeldsen et al., 2001; Buttery et al., 1968; Toth-Markus und Takacs-Hajos, 2001; Schnitzler et al., 2003]. Der Geruch der isolierten flüchtigen Aromakomponenten der Karotte wurde als „carrot-top“, terpentinartig, grün, erdig, fruchtig, zitronig, würzig, hölzern und süß beschrieben. Die Monoterpene, wie z. B. Sabinen, Myrcen und p-Cymen, sind verantwortlich für den grün-erdig und fuchsartigen Geruch mit relativ hohen Geruchsschwellen. Die Sesquiterpene, wie z. B.  $\beta$ -Caryophyllen und  $\alpha$ -Humulen, verursachen die würzige und holzige Note bei den Karotten, wohingegen der süße Eindruck hauptsächlich durch das  $\beta$ -Ionon verursacht wird [Kjeldsen et al., 2003]. Eine detaillierte Aufschlüsselung der nachgewiesenen flüchtigen Inhaltsstoffe in Karotten und deren olfaktorische und gustatorische Eigenschaften ist in der Tabelle 2-5-2 aufgeführt.



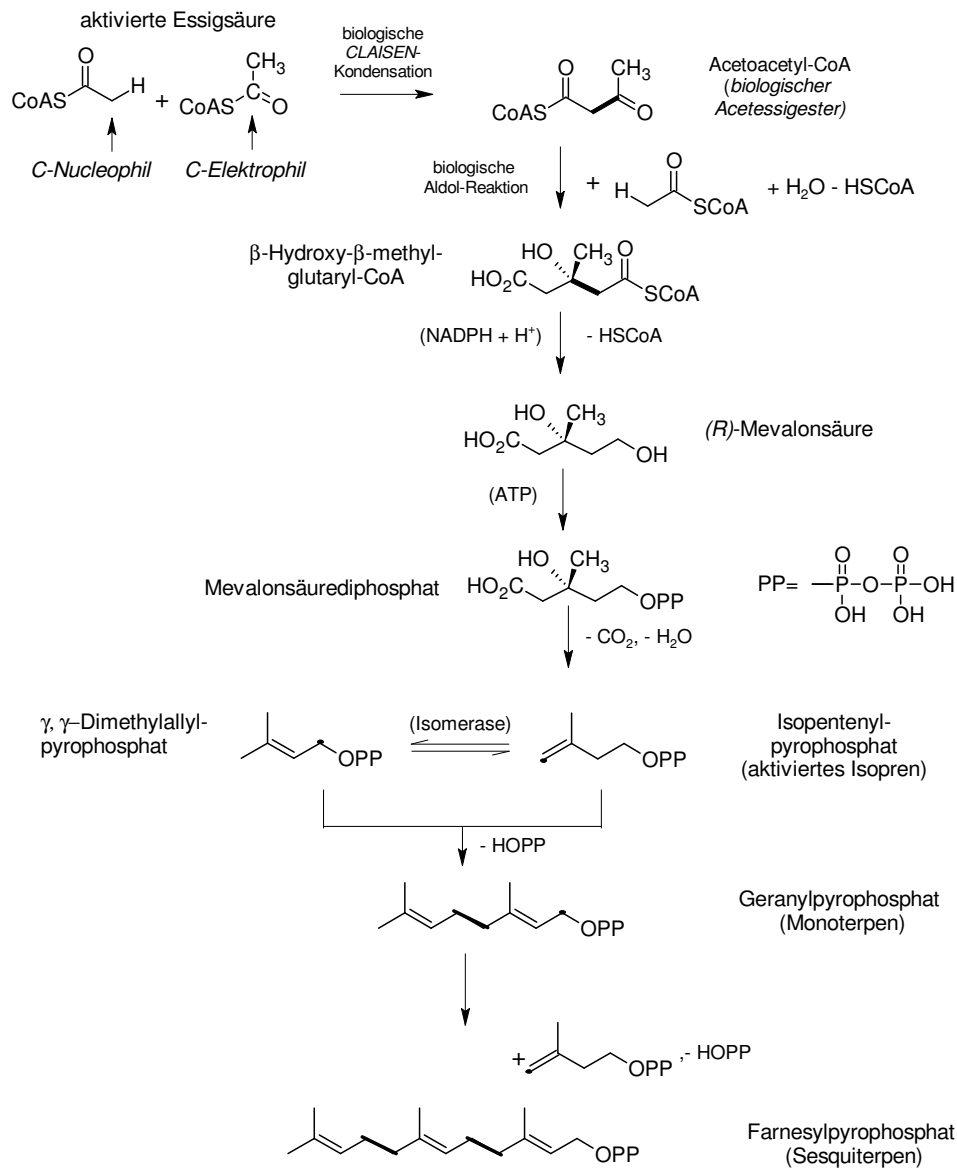


Abbildung 2-5-13: Biogenese der Mono- und Sesquiterpene nach Breitmaier, 2004 [Breitmaier, 2004]

Tabelle 2-5-2: Terpene, isoliert aus Karotten nach Kreutzmann, 2007 [Kreutzmann, 2007] mit Geruchsbeschreibung nach Burdock, 2002 [Burdock, 2002], wenn vorhanden

Komponente	Beschreibung
Aromadendren	-
$\alpha$ -Bergamoten	-
$\alpha$ -Bisabolen	angenehmer aromatischer Wohlgeruch
$\beta$ -Bisabolen	
(E)- $\gamma$ -Bisabolen	
(Z)- $\gamma$ -Bisabolen	
Borneol	beißend, campherähnlicher Geruch und brennender Geschmack; erinnert an Minze
Bornyl-Acetat	frischer, starker Harzgeruch; frischer brennender Geschmack
$\gamma$ -Cardinen	-
Camphen	terpenartiger Geruch; campherähnlicher Geschmack
Campher	charakteristischer stechender Geruch; brennender, bitterer, frischer Geschmack
Caryophyllen	terpenartiger Geruch, Mischung aus kleeartig und terpeninartig
Caryophyllenoxid	-
$\alpha$ -Chamigren	-
$\beta$ -Citronellol	charakteristischer rosenähnlicher Geruch
$\alpha$ -Copanen	-
Cuparen	-
p-Cymen	starker charakteristischer Geruch nach Karotten
p-Cymenen	-
$\gamma$ -Elemen	-
Epi-bicyclosiquiphellandren	-
$\alpha$ -Farnesen	zitronenartiger, krautiger Geruch
(E)- $\beta$ -Farnesen	
(E,E)- $\beta$ -Farnesen	
(Z)- $\beta$ -Farnesen	
Fenchyl-Acetat	milder, süßer Geruch, welcher an Tannennadelöl erinnert
Geraniol	charakteristischer rosenähnlicher Geruch
Germacren	-
$\alpha$ -Humulen	-
$\beta$ -Ionon	charakteristischer veichenähnlicher Geruch, fruchtig und hölzern
Limonen	zitronenähnlicher Wohlgeruch, frei von campherähnlichen und terpeninartigen Gerüchen
Linalool	typischer Blumenduft, frei von campherähnlichen und terpeninartigen Gerüchen
Linalyl-Acetat	charakteristischer Bergamotte-Lavendel-Geruch; langanhaltend süßer und scharfer Geschmack
Longifolen	-
1,8-Methadien	-
6-Methyl-5-Hepten-2-on	starker, fettiger, grüner, zitronenartiger Geruch; bittersüßer Geschmack, welcher an Birnen erinnert
Myrcen	süßer, aromatischer und künstlicher Wohlgeruch
(E)-Ocimen	-
(Z)- $\beta$ -Ocimen	-
$\alpha$ -Phellandren	frischer, zitronenartiger, pfefferiger Wohlgeruch, mit einer verhaltenen Minznote
$\beta$ -Phellandren	-
$\alpha$ -Pinen	charakteristischer Geruch nach Pinie, terpeninähnlich
$\beta$ -Pinen	charakteristischer Terpeningeruch, mit einem trockenen hölzernen oder harzigen Aroma
Sabinen	Geruch erinnert an Terpeneol
$\alpha$ -Santalen	-
$\beta$ -Selinen	-
$\alpha$ -Selinen	-
$\alpha$ -Terpinen	charakteristischer zitrusähnlicher Geruch
$\gamma$ -Terpinen	charakteristischer zitrusähnlicher Geruch
Terpinen-4-ol	-
$\alpha$ -Terpineol	charakteristischer fliederartiger Geruch mit einem süßen Geschmack nach verdünntem Pfirsich
Terpinolen	süßer, pinien Geruch mit einem etwas süßen, zitrusartigen Geschmack
$\alpha$ -Terpinyl-Acetat	süßer, erfrischender und krautartiger Geruch
$\alpha$ -Thujene	-
Valencen	-
$\alpha$ -Zingiberen	-

Die Differenz zwischen den unterschiedlichen Profilen der flüchtigen Inhaltsstoffe in den untersuchten Karotten lässt sich durch die verschiedenen Aufarbeitungsmethoden sowie die verwendeten GC-Methoden als auch durch die unterschiedlichen Genotypen, Unterschiede in den Anbaubedingungen, Ernte, Transport, Lagerung und Verarbeitung erklären [Seljåsen et al., 2001(a); Lafuente et al., 1996; Talcott et al., 2001; Alasalvar et al., 1999]. In der folgenden Tabelle (2-5-3) sind Terpene abgebildet, welche hauptsächlich bei dem Zerfallsprozess von Carotinoiden entstehen. Wie schon zuvor angesprochen, ist der oxidative Zerfall der Carotinoide mit dem oxidativen Fettverderb vergleichbar. Bei sensorischen Verkostungen roher Karotten stellte sich heraus, dass die beim Carotinoidzerfall entstehenden Terpene den Geschmack der Karotten nur sehr schwach beeinflussten.

Tabelle 2-5-3: Andere flüchtige Inhaltsstoffe isoliert aus Karotten nach Kreutzmann, 2007 [Kreutzmann, 2007(a)] mit der Geruchsbeschreibung nach Burdock, 2002 [Burdock, 2002]

Komponente	Beschreibung nach Burdock, 2002
2-Butanon	süßer aprikosenartiger Geruch
p-Allylanisol (Estragol)	-
Ethanol	-
(E,E)-2,4-Heptadienal	-
Heptanal	penetranter fettiger und herber Geruch; fettiger Geschmack
Hexylacetat	blumenartiger und angenehm fruchtiger Geruch nach Äpfeln, Kirschen und Birnen; bittersüßer Geschmack
2-Methyl-3-Butyn-2-ol	-
8-Methyl-1,8-Nonadiol	-
n-Nonanal	starker, fettiger Geruch, welcher sich in Verdünnung zu einer Orangen-, Rosennote entwickelt; fettiger, zitrusartiger Geschmack
n-Octanal	fettiger zitronenartiger Geruch, welcher in Verdünnung Richtung Honig geht
(E)-2-Octenal	eigenartiger grünblättriger Geruch, wenig fettiger Geruchseindruck als beim Octanal; orangen-, honig- und cognacartiges Aroma
Propanol	-
Undecan	-
2,5-Dimethylsteren	-
Elemicin	-
Myristicin	-

### 2.5.5 Methoden der Bestimmung der Terpene in Karotten

In der Literatur finden sich unterschiedliche Methoden zur Extraktion und zum Nachweis von flüchtigen Inhaltsstoffen in Karotten. Beschrieben werden simultane Destillation-Extraktion/Likens-Nickerson [Buttery et al., 1968; Habegger und Schnitzler, 2005; Toth-Markus und Takacs-Hajos, 2001; Seifert und Buttery, 1978], statische Headspace-Technik [Alasalvar et al., 1999], dynamische Headspace-Technik [Rosenfeld et al., 2002; Varming et al., 2004; Kjeldsen et al., 2001; Kjeldsen et al., 2003], Purge & Trap [Shamaila et al., 1996], Lösungsmittlextraktion [Lund und Bruemmer, 1992; Seljåsen et al., 2001(a,b)] sowie die Headspace SPME-Technik [Ulrich et al., 2003].

Da die flüchtigen Inhaltsstoffe der Karotte in nur sehr geringen Konzentrationen auftreten ( $\mu\text{g/kg}$  bzw.  $\text{mg/kg}$ ), ergeben sich besondere Herausforderungen an die Isolation, die Aufkonzentration, die Detektion und die Identifikation. Bei den neueren Methoden, welche diesen Anforderungen gewachsen sind, handelt es sich meistens um die Headspace-Technik [Rosenfeld et al., 2002; Varming et al., 2004; Kjeldsen et al., 2001; Kjeldsen et al., 2003; Kreutzmann et al., 2005; Kreutzmann et al., 2008(c); Kreutzmann et al., 2008(b)]. Bei der Headspace-Technik wird die Probe in ein geschlossenes Vial überführt und daraufhin die flüchtigen Inhaltsstoffe aus der Gasphase über der Probe isoliert. Bei der Headspace-Analyse kann zwischen zwei unterschiedlichen Techniken unterschieden werden: der statischen- und der dynamischen Technik. Bei der statischen Technik stellt sich ein Gleichgewicht zwischen Probe und der Gasphase über der Probe, bezogen auf die Konzentration an flüchtigen Inhaltsstoffen, ein. Die flüchtigen Inhaltsstoffe werden mittels Adsorbensmaterial gebunden und im Anschluss daran durch den Gasstrom wieder abgelöst und erreichen so die GC. Es ist überdies auch möglich, die Gasphase direkt in die GC zu injizieren.

Das Prinzip bei der dynamischen Headspace-Technik ist eine kontinuierliche Durchströmung der Probe mit inertem Trägergas und einer direkten Injektion in die GC, sodass sich kein Gleichgewicht im Kopfraum der Probe einstellen kann. Bei dem inerten Gas handelt es sich für gewöhnlich um Stickstoff, der mit Flussraten zwischen 10 und 200 ml/min strömt. Vergleiche der beiden Varianten der Headspace-Technik zeigten, dass bei der dynamischen Technik ein deutlich höherer Anteil an flüchtigen Inhaltsstoffen mit deutlich höheren Konzentrationen detektiert werden konnte.

Die Wahl des geeigneten Adsorbens-Materials in der Falle ist von großer Bedeutung für die Analyse.

Die Desorption des Analyten kann entweder durch ein Lösungsmittel oder durch eine Thermo-Desorption geschehen. Bei der Thermo-Desorption wird eine lösungsmittelfreie Überführung der flüchtigen Inhaltsstoffe in die GC garantiert, während bei der Verwendung von Lösungsmittel dieses zuerst verdampft werden muss, bevor die Gasphase in die GC injiziert werden kann. Während die Probe bei der Lösungsmittelextraktion nach der ersten Analyse erneut analysiert werden kann, ist dies bei der Thermo-Desorption nicht mehr möglich. Die Effekte, welche durch unterschiedliche Methoden der Entnahme von Headspace-Proben entstehen, wurden von Agelopoulos und Pickett [Agelopoulos und Pickett, 1998] untersucht. Diese verglichen die beiden unterschiedlichen Desorptionsmethoden sowie zwei unterschiedliche Adsorbentien (Porapak Q und Tenax TA). Es stellte sich heraus, dass kein signifikanter Unterschied in den Gehalten an adsorbierten flüchtigen Inhaltsstoffen festgestellt werden konnte.

Kreutzmann et al. [Kreutzmann et al., 2005] untersuchten 2005 den Einfluss unterschiedlicher Spülmethode (purging) und Schnittmuster der Karotten auf die Ausbeute von flüchtigen Aromastoffen. Die dynamische Headspace-Technik mit Trockenspülung wurde verglichen mit der dynamischen Headspace-Technik mit Nassspülung. Des Weiteren wurden das Schnittmuster „geschreddert“ und das Schnittmuster „Halbmondschnitt“ miteinander verglichen. Es wurde herausgefunden, dass die Trockenspülung im Gegensatz zur Nassspülung deutlich höhere Konzentrationen an Aromastoffen aufzeigte. Im Schnittmustervergleich stellte sich heraus, dass die höchsten Gehalte an flüchtigen Inhaltsstoffen bei den „geschredderten“ Karottenproben festgestellt wurden.

#### 2.5.6 Aufarbeitungs-, Extraktions- und Analysemethoden im ÖPV-Q

Innerhalb des JKI-ÖPV kommt eine spezielle Probenaufarbeitung mit nachgeschalteter Analytik und spezieller Auswertungstechnik zur Bestimmung der flüchtigen Inhaltsstoffe in Karottenblättern und Wurzeln zur Anwendung. Diese Methode wurde 2009 von Dunemann et al. publiziert [Dunemann et al., 2009]. Zur Identifikation der unbekannten Inhaltsstoffe wurde eine Kopplung aus Gaschromatographie und Massenspektrometrie eingesetzt.

#### 2.5.7 Nachweismethode der flüchtigen Inhaltsstoffe nach LFGB

In den amtlichen Sammlungen zu den Untersuchungsverfahren nach LFGB sind keine Beschreibungen über Nachweismethoden für den Nachweis von flüchtigen Inhaltsstoffen in Lebensmitteln zu finden.

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Probenmaterial - Anbau, Kultivierung und Ernte

Innerhalb der vorliegenden Arbeit lag der Fokus auf drei Kernstudien, welche an unterschiedlichen Variationen von Kulturmöhren (*Daucus carota* L.) durchgeführt wurden. Die erste Studie (Assoziationsstudie) bezog sich auf einen breit gefächerten Materialpool von Kulturmöhren (100 Genotypen) und Wildmöhren (104 Genotypen).

Die zweite Studie konzentrierte sich auf einen zweijährigen zweiortigen Feldversuch in Quedlinburg und Krakow mit 10 unterschiedlichen Kulturmöhrengenotypen. Für diese Versuche wurden die Karotten auf den Versuchsfeldern des JKI in Quedlinburg sowie den Versuchsfeldern der Universität Krakow in Polen in Freilandversuchen unter den jeweiligen Umweltbedingungen angebaut und unterlagen somit den in den Versuchsjahren 2008 und 2009 vorherrschenden Umweltbedingungen.

Die dritte Studie untersucht die Entwicklung von Inhaltsstoffen in Karotten während ihres Wachstums. Die Pflanzen wurden in Klimakammern des JKI-QLB unter vorher definierten Wachstumsbedingungen angezogen. Kultiviert wurden in zwei Ontogeneseversuchen zwei Wildformen sowie zwei Kulturformen. Die Pflanzen für alle Ontogeneseversuche wurden in Topfkultur gezogen.

Bei allen Versuchen wurde auf eine zügige materialschonende Ernte und Aufarbeitung geachtet. Außerdem wurde das für die Analysen benutzte Pflanzenmaterial teilweise bonitiert und fotografisch dokumentiert.

##### 3.1.1 Karottenmaterial für die Assoziationsstudie

Die erste Studie besteht aus zwei Versuchen. Sie umfasst eine Auswahl von 100 Kulturmöhrengenotypen und eine weitere von 104 Wildmöhrengenotypen. Die Pflanzen wurden in Gewächshauskabinen des JKI in Quedlinburg angezogen. Zusätzlich zum Sonnenlicht wurde in den Frühlings-, Herbst- und Wintermonaten, abhängig von der äußeren Witterung, eine Assimilationsbeleuchtung von 15-23 Uhr zugeschaltet. Die Luftfeuchtigkeit wurde bei 50 % gehalten. Die Lufttemperaturen wurden tagsüber zwischen 20 °C und 18 °C, nachts zwischen 17 °C und 15 °C gehalten.

### 3.1.2 Assoziationsversuche I und II

Für den ersten Versuch wurden, wie der Tabelle A-7-2 im Anhang zu entnehmen ist, 100 unterschiedliche Genotypen Kulturmöhren in Topfkultur (Höhe: 21 cm, Durchmesser: 18 cm) zu je 15 bis 20 Korn je Topf angepflanzt. Jede Akzession wurde in einem gesonderten Topf kultiviert. Das Saatgut der Genotypen wurde zuvor mit Thiram gebeizt und die ausgesäten Samen mit dem Fungizid Previcur N angegossen, um Auflaufkrankheiten zu verhindern. Als Erde wurde eine 1:1-Mischung aus Komposterde (3 Teile Kompost, 1 Teil Torf und 0,5 Teile Sand) und Torf verwendet. Nach ca. 6-14 Tagen war ein Auflaufen der Pflanzen zu beobachten. Nach ca. vier Wochen wurde pro Topf bis auf drei Pflanzen vereinzelt. Ab der vierten Woche wurde auf Tröpfchenbewässerung umgestellt; diese bestand aus einmal täglich 60 ml pro Topf, ab der neunten Woche aus zweimal täglich 60 ml pro Topf. Während der gesamten Vegetationsperiode wurden zahlreiche morphologische Merkmale bonitiert und fotografisch dokumentiert. Gedüngt wurden die Pflanzen mit jeweils 100 ml einer 0,2 % Wuxal-Lösung pro Topf in den Wochen 7, 9, 11 und 13 nach der Aussaat. Ab der 9. Woche nach der Aussaat wurden wöchentlich im Wechsel die Fungizide Ortiva und Harvesan eingesetzt, einmalig wurde gegen die weiße Fliege mit Tamaron gespritzt. Nach 105 Tagen wurden die Pflanzen geerntet. Hierbei wurde zuerst das Blattmaterial für die spätere Analytik auf flüchtige Inhaltsstoffe entfernt und umgehend in flüssigem Stickstoff eingefroren. Anschließend wurden die Wurzeln geerntet, gewaschen, gewogen, fotografiert, in Würfel geschnitten und bei -68 °C eingefroren.

Entsprechend dem ersten Versuch wurden für den zweiten Versuch 104 Genotypen Wildmöhren angebaut (Anhang Tabelle A-7-3). Die Parameter des zweiten Versuchs wurden, bis auf einige geringfügige Abweichungen, analog zum ersten Versuch festgelegt. So wurden pro Topf 15 statt 20 Korn ausgesät. Aufgrund des Wildmaterials betrug die Auflaufzeit 10-33 Tage. Die Vereinzlungen auf drei Pflanzen fanden nach 4-8 Wochen je nach Entwicklungsstadium statt. Die Düngung der Wildmöhren wurde in der 8., 10., 12., 14. und 16. Woche mit 100 ml einer 0,2 % Wuxal-Lösung (pro Topf) durchgeführt. Bei der Ernte wurde das Material nicht gleichzeitig geerntet, sondern nach den Stadien, in welchen sich die Pflanzen befanden. Somit wurden Töpfe, in denen mindestens eine Pflanze geschosst hatte, etwa zum Blühbeginn geerntet. Die Mehrheit der Pflanzen wurde 126 Tage nach der Aussaat geerntet. Die Ernte und die Probenaufarbeitung verliefen analog zum ersten Versuch.

### 3.1.3 Karottenmaterial für die zweiortigen, zweijährigen Feldversuche (Krakow-Quedlinburg)

Für den zweijährigen, zweiortigen Feldversuch in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten JKI-Quedlinburg und an der Universität Krakow wurde darauf geachtet, dass

durch die zentrale Auswahl des Saatgutes, einheitliche, stabile Kultivierungsdauern sowie Auflauf- und Erntezeitpunkte eine möglichst hohe Vergleichbarkeit zwischen beiden Standorten und damit zwischen den Ergebnissen hergestellt werden konnte.

Für die Feldversuche wurden zweimal 10 Genotypen von Kulturmöhren mit je 4 Wiederholungen aus dem Sortenportfolio des ersten Assoziationsversuchs ausgewählt (Tabelle 3-1-1). Ziel dieser Versuche war es, Jahres- und Standorteinflüsse zu ermitteln. Die zehn Genotypen unterschieden sich nicht nur in den Farben, sondern wiesen auch verschiedene Züchtungshintergründe sowie eine möglichst globale Verbreitung auf. Damit wurde der Genpool der wirtschaftlich genutzten Kulturmöhren möglichst umfassend repräsentiert. Bei diesen zehn Genotypen handelte es sich um weit verbreitete und wirtschaftlich bedeutsame Sorten, zwei orangene, zwei gelbe, zwei violette Möhrentypen sowie jeweils ein roter und ein weißer Möhrentyp (Tabelle 3-1-1). Sie stammen von den zwei bedeutendsten Karottenzüchtern weltweit, Bejo aus den Niederlanden und Seminis aus den USA.

Angepflanzt wurden die 10 Genotypen mit ihren vier Wiederholungen eines Anbaujahres in jeweils separaten Parzellen mit je zwei Reihen à 3 Meter Länge und einem Reihenabstand von 0,38 Metern. Pro Meter wurden 100 Korn mit Thiram gebeizten Saatgutes ausgesät und im Jahr 2008 mit dem Vorlaufherbizid Stomp SC mit 3 l/ha behandelt, während im Jahr 2009 die beiden Vorlaufherbizide Bandur (2 l/ha) und Stomp (1,75 l/ha) zur Anwendung kamen. Um den Versuchsanbau herum wurden eine Reihe der beiden Sorten 'Rotin' und 'Sperling' zum Zwecke des Fraßschutzes als Randstreifen ausgesät. Ausgedrillt wurde das gesamte Saatgut mit einer Einzelreihendrillmaschine (Hege 76) mit Anbaudrillmaschine (Hege 90). Während des gesamten Wachstumsprozesses wurden Bonituren nach zuvor festgelegten einheitlichen Boniturschemata durchgeführt. Über den gesamten Wachstumszeitraum von 125/126 Tagen für das Jahr 2008 bzw. 117/118 Tagen für das Jahr 2009 wurden keine Pflanzenschutzanwendungen vorgenommen. Aufgrund von Trockenheit in beiden Jahren mussten im Jahr 2008 an drei Terminen und im Jahr 2009 an zwei Terminen Zusatzberegnungen der Pflanzen vorgenommen werden.

Bei der Ernte in Quedlinburg wurden zuerst von jedem Genotyp Blattproben gezogen, welche für eine Bestimmung von flüchtigen Inhaltsstoffen durch die GC verwendet wurden. Anschließend wurden die restlichen Blätter durch eine Motorsense entfernt und verworfen. Die Karottenwurzeln wurden mittels eines Kleintraktors und gezogenem/handgeführtem Rüben-/Möhrenpferdepflugs geerntet, in Kisten verpackt und für die anschließende Weiterbearbeitung in ein Feldlabor verbracht. Hier wurden die Karotten parzellenweise sortiert bzw. in verschiedene Klassen fraktioniert. Dabei wurden die Anzahl und das Gewicht



der Wurzeln in den einzelnen Klassen dokumentiert. Schließlich wurde von den marktfähigen Karotten einer Parzelle jeweils eine repräsentative, ca. 1 kg umfassende Probe genommen. Diese Wurzeln wurden gewaschen, abgetrocknet, von der Schulter befreit, in 1 x 1 cm große Würfel geschnitten, ausgewogen und bis zur weiteren Verarbeitung bei -68 °C tiefgefroren.

Tabelle 3-1-1: Standard-Karotten-Genotypen mit Herkunftsbezeichnung für die Feldstudien 2008/2009

Kultivar	Herkunft (Züchter)	Farbe
White Satin	Bejo	weiß
Yellowstone	Bejo	gelb
710015	Seminis	gelb
Nutired	Seminis	rot
Santa Cruz	Seminis	orange
Nerac F1	Bejo	orange
Deep Purple F1	Bejo	violett
Anthonina	Seminis	violett
Blanche ½ longue des vosges	INH	weiß
Pusa Kesar	Genbankmaterial	rot

Am Standort Krakow wurden ausschließlich die Bonitur des Karottenmaterials und die Auswahl der repräsentativen Stichproben von einem kg Karottenwurzeln durchgeführt. Die sich anschließenden Schritte erfolgten aus Gründen einheitlicher Aufarbeitung für die spätere Gefriertrocknung in Quedlinburg.

#### 3.1.4 Karottenmaterial für die Ontogenesestudie

Bei der Durchführung der Ontogenesestudie wurden zwei Versuche mit unterschiedlichen Schwerpunkten unternommen. Mit dem ersten Versuch wurden das Wachstum und die Veränderung der flüchtigen und nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe während des Wachstums an zwei Genotypen von Kulturmöhren überprüft. Zusätzlich wurde versucht durch den Vergleich der Analyseergebnisse der nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe in den Blättern und den Wurzeln eine Korrelation zwischen beiden festzustellen und somit die Möglichkeit einer Vorernteuntersuchungsmethode zu erforschen. Überdies wurden anschließend an die „normale“ Wachstumsphase die Kulturmöhren für zwei Wochen bei 5 °C einem Kältestress ausgesetzt und anschließend eine Woche unter den zuvor beschriebenen Wachstumsbedingungen zum Akklimatisieren in die Klimakammer zurückgestellt. Dadurch sollte ein möglicher Einfluss auf das Inhaltsstoffspektrum - bedingt durch den Kältestress - ermittelt werden.

Bei den beiden Genotypen handelte es sich zum einen um die Sorte 'Nevis' F1 der Firma Bejo, zum anderen um die Sorte 'Rotin' der Firma Sperling. Beide Sorten sind durchgezüchtete Kulturmöhren, die in Europa weit verbreitet sind und somit auch eine wirtschaftliche Bedeutung für die Lebensmittelindustrie haben.

Der zweite Wachstumsversuch betrachtete die Veränderung der nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe während des Wachstumsprozesses in zwei Genotypen von Wildmöhren. Für den Versuch wurden zwei Genotypen ausgesucht, bei denen sich im Rahmen der Assoziationsversuche große und interessante Polyacetylspektren gezeigt hatten und von welchen außerdem ausreichend Saatgut zur Verfügung stand (Tabelle 3-1-2). Hierbei handelte es sich um die Genotypen DAL 377/00-10 und GRCGGB 11057.

Die beiden Ontogeneseversuche waren in ihrem Aufbau, der Durchführung sowie den verwendeten Klimaparametern identisch; in dem ersten Ontogeneseversuch wurde zusätzlich noch der Einfluss von Kältestress auf das Inhaltsstoffspektrum überprüft.

Der Aufwuchs der Versuchspflanzen erfolgte unter folgenden äußeren Bedingungen: Am Tag wurde eine konstante Temperatur von 20 °C bei einer 60 % igen Luftfeuchtigkeit eingestellt. Die Belichtungsstärke wurde auf 15 klx bei einer Gesamtbelichtungsdauer von 16 Stunden pro Tag festgelegt. In der Nacht wurde die Temperatur auf 15 °C gesenkt und die Luftfeuchtigkeit bei 60 % belassen. Alle Pflanzen des Versuches wurden in Topfkulturen kultiviert und von Hand und ohne Verwendung von Pflanzenschutzmitteln oder Dünger gegossen.

Für die Kulturmöhren wurde eine Wachstumsdauer von 19 Wochen festgelegt. Aus der Größe der zu erntenden Pflanzen ergaben sich während der 19-wöchigen Wachstumsphase 17 Erntetermine, an welchen ausreichend Material für eine Analyse geerntet werden konnte. Nach der 16. Woche folgten zwei Wochen simulierter Vernalisation bei 6 °C und anschließend eine Woche Akklimatisierung unter den vorhergehenden Parametern.

Tabelle 3-1-2: In den Ontogeneseversuchen I und II verwendetes Karottenmaterial und dessen Spezifizierung

Ontogeneseversuch	Spezies/Kultivar	Herkunft	geograph. Herkunft
I	Nevis F1	Bejo	Niederlande
I	Rotin	Sperling	Deutschland
II	<i>Daucus carota</i>	DAL 377/00-10 (AS 180)	?
II	<i>Daucus carota</i>	GRCGGB 11057 (AS 205)	Griechenland

#### 3.1.4.1 Ontogeneseversuch I (Kulturmöhren)

Für die Durchführung des ersten Ontogeneseversuchs wurden in 60 Töpfe für jeden Genotyp jeweils 15 Korn sowie in einen Topf 300 Korn ausgesät. Letztere dienten der Ernte ab dem dritten Ontogenesestadium nach BBCH-Codes, um die für die Analytik erforderliche Biomasse zu erreichen. In den ersten Ontogenesestadien produzieren die Pflanzen nur sehr wenig Biomasse. Die für alle drei Versuche verwendete Pflanzerde bestand aus dem gleichen Gemisch wie die im Rahmen der beiden Assoziationsversuche verwendete (siehe 3.1.2). Für die ersten beiden Ontogenesestadien, dem Keimblattstadium und dem Stadium, in welchem sich das erste Primärblatt ausbildet, wurden für jeden Genotyp jeweils auf vier sterilen Petrischalen 50 Korn ausgesät und für das erste Stadium nach 7 Tagen (Anhang A-7-9) und für das zweite Stadium nach 13 Tagen mittels einer Pinzette geerntet (Anhang A-7-10), gewaschen, ausgewogen, bei -68 °C eingefroren, gefriergetrocknet, ausgewogen und anschließend auf nicht-flüchtige Inhaltsstoffe analysiert. Für die Zuckanalytik reichte das Probenmaterial hierbei nicht aus. Die übrigen Stadien des Ontogeneseversuchs sind, wie den Abbildungen A-7-11 bis A-7-14 im Anhang zu entnehmen ist, zu den aufgeführten Zeitpunkten geerntet, bonitiert, gewaschen, ausgewogen, das Wurzelmaterial zerkleinert und bei -68 °C eingefroren, gefriergetrocknet, ausgewogen, vermahlen und analysiert worden. Die Analyse der Einzelpflanzen auf Zucker konnte wegen der geringen Menge des Probenmaterials erst ab der 12. Wachstumswoche erfolgen, sodass erst ab diesem Stadium Standardabweichungen berechnet werden konnten. Bis das Wachstum der einzelnen Karottenpflanzen soweit vorangeschritten war, dass sie ausreichend Biomasse für eine Einzelpflanzenanalytik besaßen, wurden die Karotten in Form von Mischproben aus jeweils drei Töpfen bzw. im dritten Stadium aus dem Topf mit den ausgesäten 300 Korn geerntet. Hatten die Karotten ausreichend Biomasse aufgebaut, wurde auf eine Einzelpflanzenanalytik von fünf Pflanzen je Genotyp und Ontogenesestadium sowie die Analyse der Mischprobe und mögliche Schosser umgestellt. Bei der Ernte der Einzelpflanzen wurden für jeden Genotyp jeweils die Karottenpflanzen aus drei Töpfen geerntet, gewaschen, das Material bonitiert und die Pflanzen nach der Wurzelgröße sortiert. Die fünf größten Pflanzen wurden für die Einzelanalytik erneut bonitiert und die restlichen Pflanzen als Mischprobe weiterverarbeitet. Bei der Weiterverarbeitung wurden die Pflanzen der Mischprobe fotografisch dokumentiert, ausgewogen, die Wurzel vom Blattwerk getrennt und die Wurzeln zerkleinert. Anschließend folgte die etablierte Probenaufarbeitung mittels Gefriertrocknung, Vermahlung und anschließender Analytik auf nicht-flüchtige Inhaltsstoffe in der Wurzel. Die Blätter wurden auf flüchtige Inhaltsstoffe mittels HS-SPME-GC analysiert.

Bei der Einzelpflanzenanalytik wurden die Proben einzeln fotografisch dokumentiert um den Zuwachs an Biomasse zu dokumentieren und um die typischen Merkmale der

Karottenpflanzen den jeweiligen Ontogenesestadien zuordnen zu können. Die Einzelpflanzen wurden anschließend separat analog zu der Mischprobe aufgearbeitet und ebenfalls auf nicht-flüchtige und flüchtige Inhaltsstoffe analysiert.

Die Ernte wurde in einem festen Abstand von einer Woche zu einer festgelegten Zeit durchgeführt. Dadurch konnte eine Vergleichbarkeit der Proben sichergestellt werden. Nach der Ernte wurden die unterschiedlichen Stadien in der Entwicklung der Karotte mit den BBCH-Codes verglichen und, soweit es möglich war, mit diesen in Einklang gebracht (Anhang A-7-6 bis A-7-8). Die ersten beiden Stadien, das Keimblattstadium und das Primärblattstadium, wurden den BBCH-Codes für Wurzel- und Knollengemüse 10 und 11 zugeordnet. Ein weiteres Stadium nach der BBCH-Codierung konnte bei der Wachstumswoche 7 festgelegt werden. Dieses Stadium der Wurzelreife wurde als BBCH-Code 41 definiert. Zu diesem Zeitpunkt wurde von der Analytik einer Blatt/Wurzel-Mischprobe auf die Einzelpflanzenanalytik umgestellt, da die Wurzeln nun ausreichend Biomasse für eine Einzelpflanzenanalytik gebildet hatten. Bei der Einzelpflanzenanalytik wurden Stichproben von fünf Einzelpflanzen genommen, einzeln aufgearbeitet und analysiert und zu einem Mittelwert mit Standardabweichung zusammengefasst. Das letzte Stadium, welches einem BBCH-Code zugeordnet werden konnte, sind die Kultivierungswochen 15 und 16; zu diesen Zeitpunkten hatten die Karotten ihr Dickenwachstum abgeschlossen und waren erntereif. Durch die festgelegten Erntetermine und die sich daraus ergebenden fest definierten Stadien, in welchen sich die Karotten befanden, konnten feste physiologische Schritte in der Ontogenese der Karotte erfasst und die Inhaltsstoffe zu den jeweiligen Zeitpunkten gemessen werden.

#### 3.1.4.2 Ontogeneseversuch II (Wildmöhren)

Bei der Durchführung des zweiten Ontogeneseversuchs wurden, wie in der Tabelle 3-1-2 aufgeführt, zwei Wildtypen verwendet. Bei den beiden Wildkarotten handelte es sich zum einen um einen Kultivar aus dem JKI, zum anderen um einen aus einer Genbank. Um die Durchführung des zweiten Ontogeneseversuchs zu ermöglichen, wurde aus dem Saatgut, welches aus dem Assoziationsversuch II verblieben war, Karottenmaterial zur Saatgutvermehrung angebaut und somit Saatgut für den zweiten Ontogeneseversuch gewonnen. Das Saatgut wurde von Pflanzen gewonnen, welche ohne Vernalisation schossten.

Die gesamte Durchführung des zweiten Ontogeneseversuchs erfolgte analog zu dem ersten Ontogeneseversuch. Es wurde versucht, den einzelnen Erntedaten/Kultivierungswochen zum Zwecke der besseren Reproduzierbarkeit der Studie BBCH-Codes zuzuordnen. Die

ersten beiden Stadien, das Keimblattstadium und das Primärblattstadium, wurden entsprechend dem ersten Ontogeneseversuch den BBCH-Codes für Wurzel- und Knollengemüse 10 und 11 zugeordnet. Ein weiteres Stadium nach der BBCH-Codierung konnte bei der Wachstumswoche 6 festgelegt werden. Dieses Stadium der Wurzelreife wurde als BBCH-Code 41 definiert. Zu diesem Zeitpunkt wurde von der Analytik einer Blatt/Wurzel-Mischprobe auf die Einzelpflanzenanalytik umgestellt, da die Wurzeln nun ausreichend Biomasse für eine Einzelpflanzenanalytik gebildet hatten. Bei der Einzelpflanzenanalytik wurden Stichproben von fünf Einzelpflanzen genommen, einzeln aufgearbeitet und analysiert und zu einem Mittelwert mit Standardabweichung zusammengefasst. Das letzte Stadium, welches einem BBCH-Code zugeordnet werden konnte, waren die Kultivierungswochen 11 und 12. Zu diesen Zeitpunkten hatten die Karotten ihr Dickenwachstum abgeschlossen und waren erntereif. Die kürzere Kultivierungsdauer ist zum einen damit zu begründen, dass es sich um Wildmaterial handelt, was nicht auf eine feste Kultivierungsdauer von ca. 100 Tagen optimiert/selektiert wurde, zum anderen war nach der 12. Wachstumswoche das Wildmaterial vollständig geschosst, sodass keine „normalen“ Wurzelproben mehr genommen werden konnten.

Zu beachten war, dass aufgrund des Wildmaterials die Wildkarotten später als die Kulturmöhren aufliefen, somit später auf eine Einzelpflanzenanalytik umgestellt werden konnte, und dass die Wildkarotten Wurzeln mit geringeren Biomassen ausbildeten. Des Weiteren schosste das Wildmaterial früher, sodass die Ontogeneseversuche nach der neunten Ernte aufgrund von vollständig durchgeschosstem Karottenmaterial beendet werden mussten. Es wurde bewusst auf den künstlich induzierten Kältestress verzichtet, da Wildmöhren eine kürzere Wachstumsphase haben und schneller anfangen in die vegetative Phase zu gehen. Wie sich anhand der Wachstumswochen sehr gut ablesen lässt, hat sich diese Erkenntnis erneut bestätigt, sodass es gar nicht möglich gewesen wäre, einen Kältestress an nicht geschosstem Material durchzuführen. Der Versuch musste ohnehin nach der 12. Woche abgebrochen werden, da ab diesem Zeitpunkt kein Material mehr vorhanden war, was noch nicht in voller Blüte stand. Die geringeren Biomassen der Wildmöhren, das spätere Auflaufen der Wildmöhren sowie das frühe Schossen sind durch den Wildtyp zu erklären und unterstreichen, dass es sich um „echtes“ Wildmaterial handelte.

### 3.2 Chemikalien, Referenzsubstanzen und Verbrauchsmaterialien

#### 3.2.1 Chemikalien

Chemikalien, welche im Zuge dieser Arbeit verwendet wurden, waren, wenn nicht anders gekennzeichnet, von p.a. Qualität. Alle für die HPLC-Analytik verwendeten Chemikalien wurden in „HPLC gradient grade“-Qualität bezogen. Die einzelnen Chemikalien sind im Folgenden aufgelistet:

Acetonitril	Merck, Darmstadt; # 1.00030.25000
Essigsäureethylester	Roth, Karlsruhe; # 7336.1
HPLC-reines Wasser	Aquitos LS TI; MembraPure, Bodenheim
Methanol	Merck, Darmstadt; # 1.06007.2500
Methanol [HPLC-MS]	Baker, Deventer, Niederlande; # 8402
n-Butanol	Merck, Darmstadt; # 1.01988.2500
Petrolether	Roth, Karlsruhe, # T173.2

#### 3.2.2 Referenzsubstanzen und HPLC-Säulen

##### 3.2.2.1 Carotinoide

Für die Carotinoidanalytik wurden für alle Zielsubstanzen entsprechende Referenzsubstanzen bei Händlern erworben:

$\alpha$ -Carotin, 1 $\mu$ g/ml in 100 % Aceton	LGC Standards, Wesel; # UN 1090
$\beta$ -Carotin	Sigma-Aldrich, Taufkirchen; # C4582-5MG
Lutein	Roth, Karlsruhe; # 5671.1
Lycopin	Sigma-Aldrich, Taufkirchen; # L9879-1MG

Für die Bestimmung der Carotinoide wurde eine Develosil RP-Aqueous C30 (150 x 3 mm; 3 µm) Säule der Firma Phenomenex, Aschaffenburg, # CH0-6001 verwendet. Dieser war, verbunden durch eine 60 x 0,12 mm Verbindungskapillare, ein Inline-Filter, mit einem Innendurchmesser von 4,6 mm und einer Porengröße von 2 µm, der Firma Agilent, Böblingen, # 01090-68702 vorgeschaltet.

Im Folgenden sind die Kalibrationskurven für die vier „Zielcarotinoide“ aufgezeigt. Die Korrelationskoeffizienten lagen für Lutein, α-Carotin, β-Carotin und Lycopin bei 0,9979, 0,9974, 0,9913 und 0,9936.

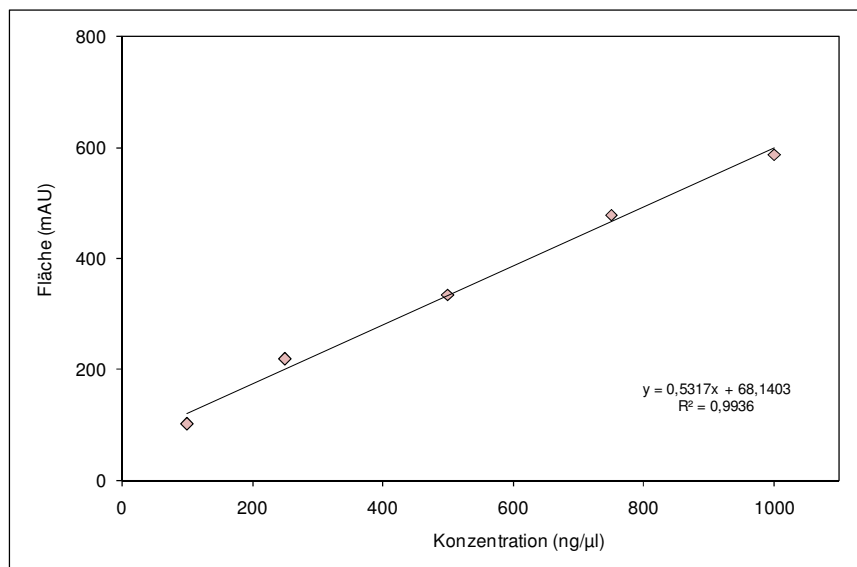


Abbildung 3-2-1: Kalibrationskurve von Lycopin

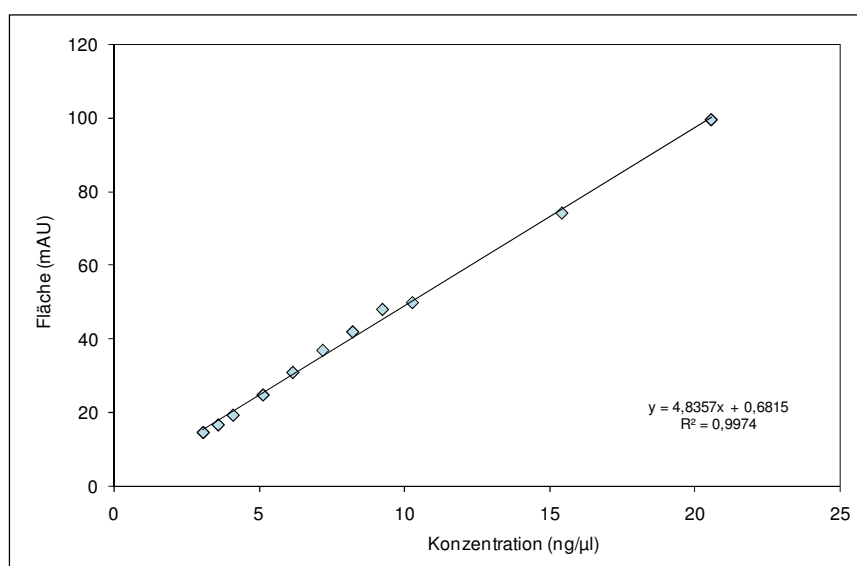


Abbildung 3-2-2: Kalibrationskurve von α-Carotin

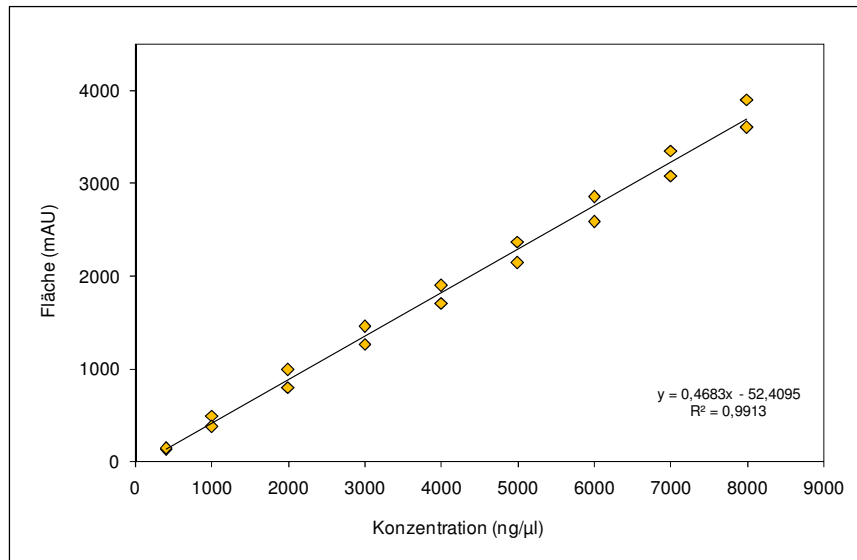


Abbildung 3-2-3: Kalibrationskurve von β-Carotin

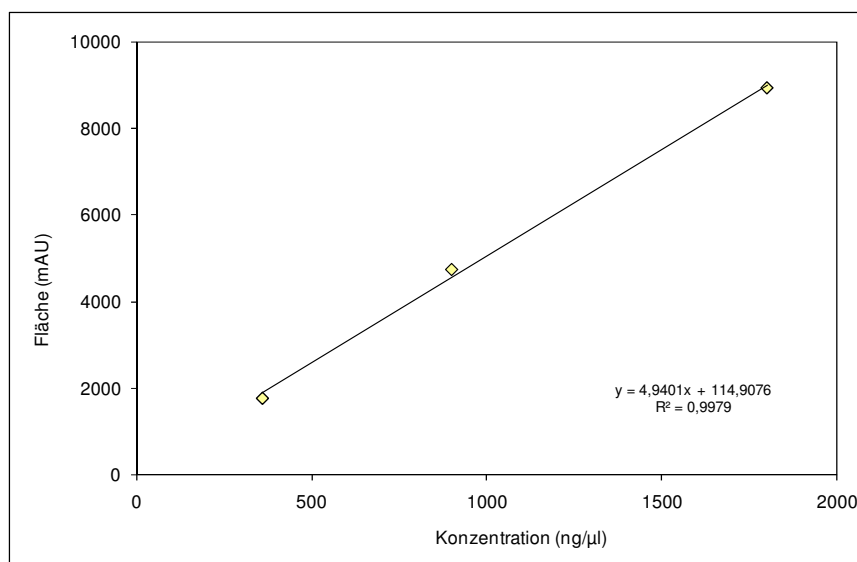


Abbildung 3-2-4: Kalibrationskurve von Lutein

### 3.2.2.2 Polyacetylene

Für den Nachweis von Polyacetylenen in Karotten wurden drei Polyacetylene des Falcarinol-Typs als Zielsubstanzen festgelegt. Bei diesen drei Polyacetylenen handelt es sich um Falcarinol, Falcarindiol sowie um das Falcarindiol-3-Acetat. Von zwei der drei Polyacetylene, Falcarinol und Falcarindiol, konnten Referenzsubstanzen erworben werden, die Konzentration von Falcarindiol-3-Acetat wurde jeweils basierend auf der Kalibration von Falcarindiol erstellt.



Falcarinol,  $\geq 92\%$ Toroma Organics Ltd., Saarbrücken;  
CAS- 4117-12-8Falcarindiol,  $\geq 95\%$ SiChem GmbH, Bremen; # SC-0013,  
CAS- 55297-87-5

Die Korrelationskoeffizienten für Falcarinol und Falcarindiol lagen bei 0,988 und 0,980.

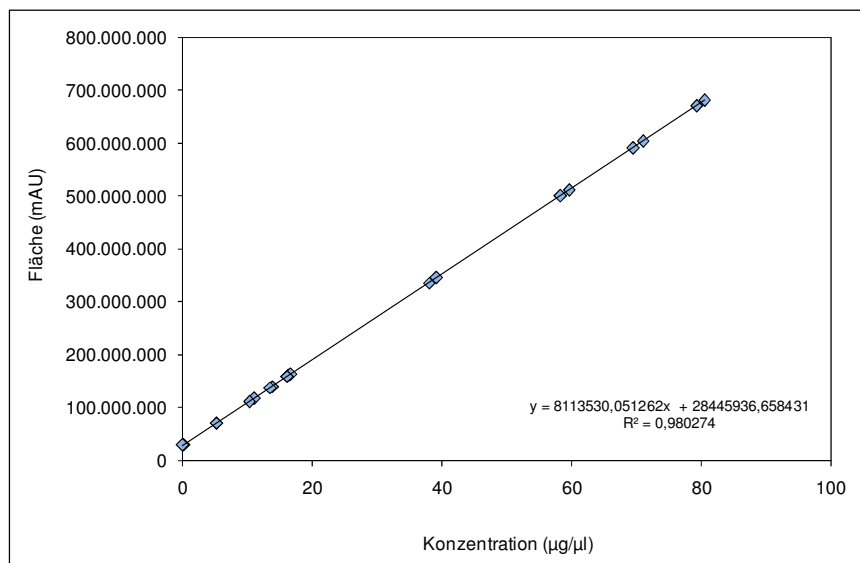


Abbildung 3-2-5: Kalibrationskurve von Falcarindiol

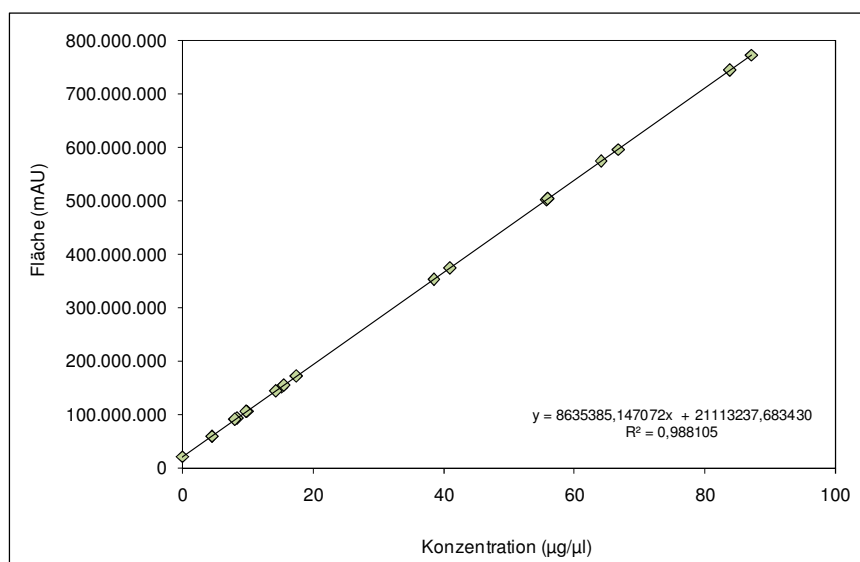


Abbildung 3-2-6: Kalibrationskurve von Falcarinol

Für die Bestimmung der Polyacetylene in Karotten wurde eine Zorbax Eclipse XDB-C18 (150 x 3 mm; ID 3,5 µm) Säule der Firma Agilent, Böblingen, # 963954-302 verwendet.

Dieser war, verbunden durch eine 60 x 0,12 mm Verbindungskapillare, ein Inline-Filter, mit einem Innendurchmesser von 4,6 mm und einer Porengröße von 2 µm, der Firma Agilent, Böblingen, # 01090-68702 vorgeschaltet.

### 3.2.2.3 Zucker

Für die Bestimmung von Zuckern in Karotten wurden zwei Monosaccharide und ein Disaccharid als Zielsubstanzen festgelegt. Bei den beiden Monosacchariden handelt es sich um Glucose und Fructose, während es sich bei dem Disaccharid um Saccharose handelt. Von allen drei Zielsubstanzen wurden Referenzsubstanzen erworben:

D (-) -Fructose, 99,0 %

Merck, Darmstadt, # 4007.0250

D (+) -Glucose, 99,5 %

Sigma-Aldrich, Taufkirchen, # G-7528

D (+) -Saccharose, 99,7 %

Roth, Karlsruhe, # 4661

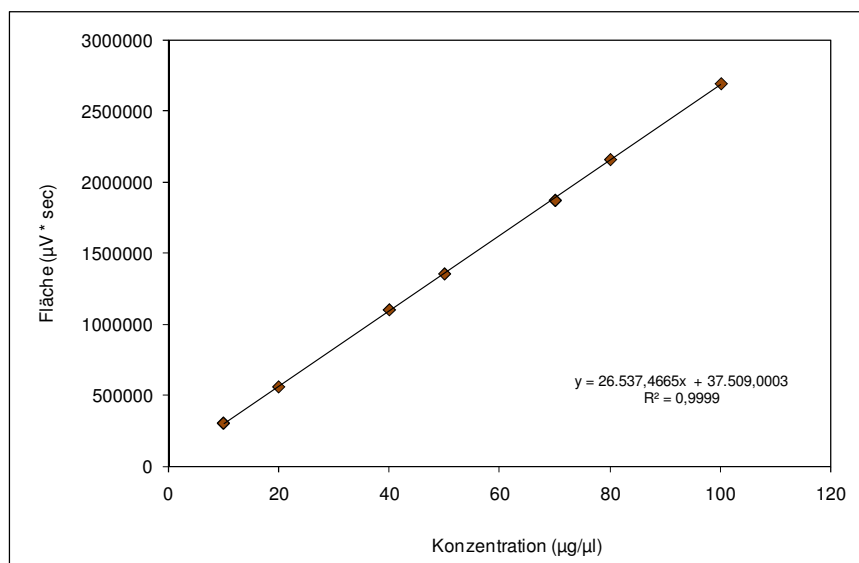


Abbildung 3-2-7: Kalibrationskurve Fructose

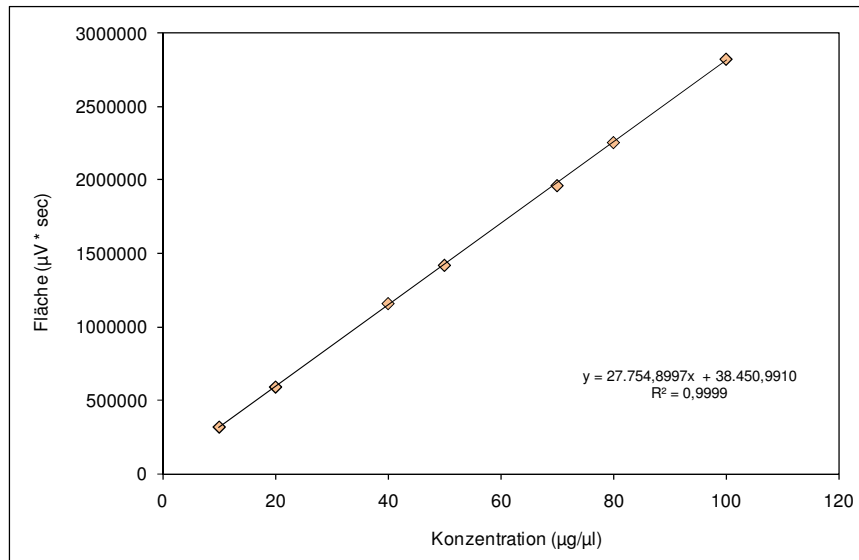


Abbildung 3-2-8: Kalibrationskurve Glucose

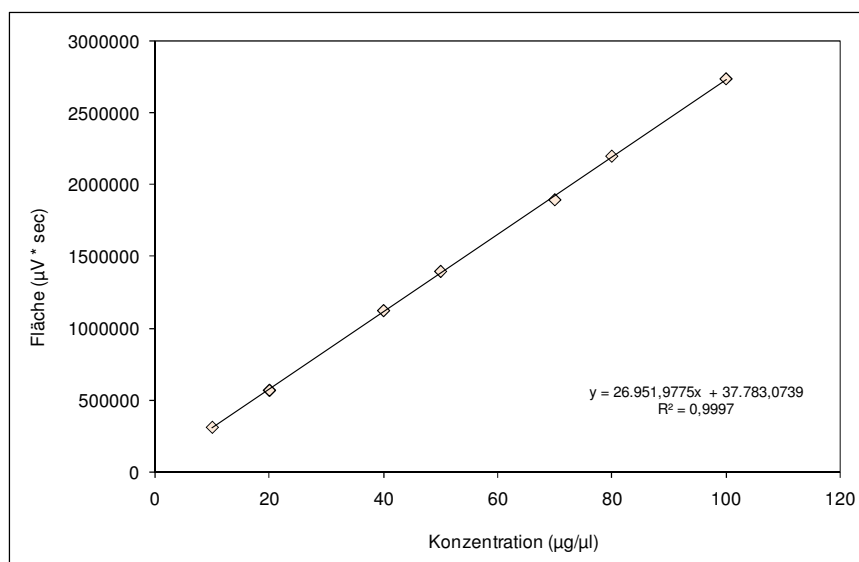


Abbildung 3-2-9: Kalibrationskurve Saccharose

Für die Bestimmung der Zucker in Karotten wurde eine Supelcosil LC NH<sub>2</sub> (250 x 4,6 mm, ID 5 µm) der Firma Sigma-Aldrich, Taufkirchen, # 58338 mit einer Vorsäulenkartusche verwendet. Basierend auf den drei Referenzsubstanzen wurden Kalibrationen zur Identifikation und Quantifikation derselbigen erstellt. Die Korrelationskoeffizienten lagen für Glucose, Fructose und Saccharose bei 0,9999, 0,9999 und 0,9997 (siehe Abbildung 3-2-7 bis 3-2-9).

#### 3.2.2.4 Flüchtige Inhaltsstoffe

Für die Analytik auf flüchtige Inhaltsstoffe wurde ein nicht-zielgerichteter Analyseansatz gewählt. Die Identifikation der flüchtigen Inhaltsstoffe wurde mittels GC-MS mit integrierter Library der folgenden Firmen durchgeführt: Wiley 138, NIST 02 und HPCH 1607 von der Allured Corp., Carol Stream, IL, USA.

Die Absicherung der in den Libraries gefundenen Daten erfolgte für 21 der 23 Zielkomponenten in der Karotte durch Co-Elution von authentischen Verbindungen von der Firma Sigma-Aldrich, Taufkirchen. Ausschließlich für Cymen und Germacren wurden keine Referenzsubstanzen zur Absicherung verwendet.

Für die Analytik der flüchtigen Inhaltsstoffe mittels HS-SPME wurde eine 100 µm Polydimethylsiloxan-Faser von Supelco, Bellefonte, PA, USA verwendet.

Die Analytik erfolgte unter Verwendung einer polaren Säule mit den Spezifikationen: HP INNOWax, 0,25 mm Durchmesser, 30 m Länge und 0,5 µm Filmdicke.

#### 3.2.3 Verbrauchsmaterialien

Für die Probenvorbereitung und Probenaufarbeitung wurden die im Folgenden aufgeführten Verbrauchsmaterialien verwendet:

ASE Frit Protection Filter	Glasfaser x Cellulose, Ø 19,8 mm Dionex, Idstein; # P/N 049458, Rev. 06 D28
Reflexperlen	bleifreies Kalknatron-Glas, Ø 1,7-2,0 mm Roth, Karlsruhe; # A556.1
SPE-Säule	Chromabond C18, 3 ml, 500 mg Roth, Karlsruhe; # N747.1
Spritzenvorsatzfilter	PET 0,45 µm Phenomenex, Aschaffenburg; AF0-2102-12

#### 3.3 Geräte

Zur Erhebung der in der vorliegenden Arbeit dargestellten Daten wurden die im Anhang aufgelisteten Geräte verwendet.

### 3.4 Methoden

#### 3.4.1 Probenvorbereitung der Karottenproben im Labor

Um eine optimierte Probenbearbeitungskette von ineinandergreifenden Schritten zu ermöglichen war es notwendig, den präanalytischen mit dem analytischen Teil auf optimale Weise zu verknüpfen (Abbildung 3-4-1). Zu diesem Zweck wurde eine Verfahrensanweisung entwickelt, die diesen Anforderungen gerecht wurde und dabei auch Zeit, Material und Arbeitskraft schonte. Der Verfahrensablauf wurde auf alle in dieser Arbeit generierten Carotinoid- und Polyacetylenaten angewendet.

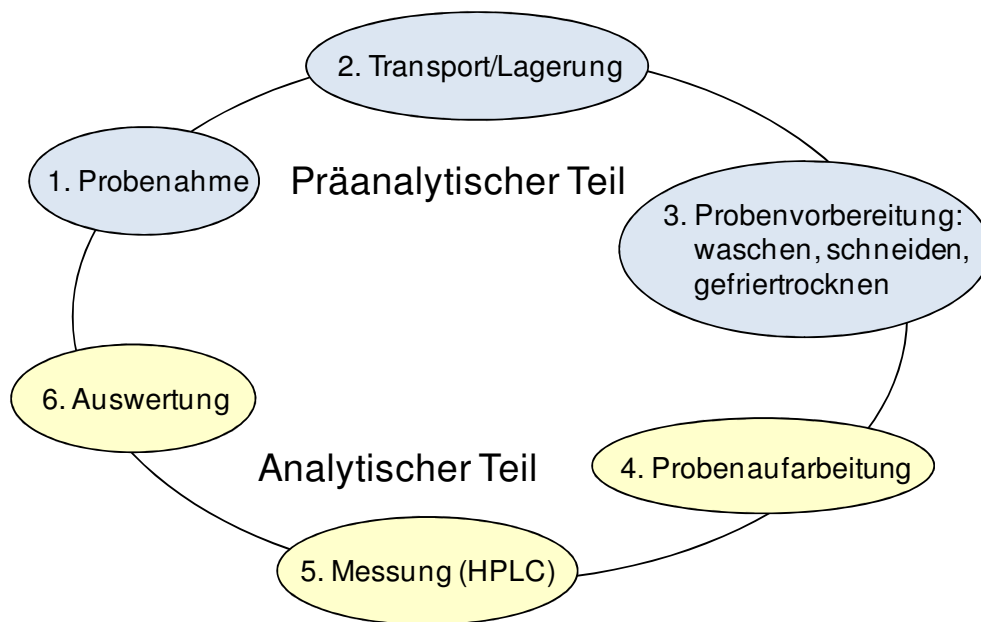


Abbildung 3-4-1: Verfahrensablauf der Untersuchung der Karottenproben

Nach dieser Verfahrensanweisung wurden die Karotten nach der Ernte umgehend schonend mit kaltem Wasser gewaschen, anschließend vom Blattwerk befreit und in 1 x 1 cm große Würfel geschnitten. Die Würfel wurden ausgewogen und danach in gefrierfesten Plastikeuteln bei -68 °C tiefgefroren. Die tiefgefrorenen Karottenwürfel wurden anschließend mittels einer Gefriertrocknungsanlage von Christ gefriergetrocknet und daraufhin für 2 min bei 300 U/min in einer Retsch-Schwingmühle zu feinem Pulver vermahlen, welches bis zu der nachgeschalteten Extraktion durch die ASE wiederum bei -68 °C in licht- und sauerstoffundurchlässigen Verpackungen gelagert wurde. In diesem Zustand, gelagert unter Ausschluss von Licht und Luftsauerstoff bei -68 °C, kann davon

ausgegangen werden, dass sich die Inhaltsstoffe der Proben innerhalb der planmäßigen Aufarbeitungs- und Analysezeit nicht signifikant reduzieren [Kreutzmann et al., 2007(b)].

Zur Feststellung potenzieller Abbauraten von Carotinoiden und Polyacetylenen während der Lagerdauer von der Ernte des Karottenmaterials bis zur Analyse und im Verlaufe der Analyse selbst wurden Lagerversuche durchgeführt. Bei diesen wurden fünf verschiedenfarbige Kulturmöhrenproben gefriergetrocknet vermahlen, direkt aufgearbeitet und analysiert. Bei den Kulturmöhren handelte es sich um die Sorten 'White Satin' (WS), 'Yellowstone' (Y), 'Nutrired' (Nu), 'Nerac F1' (NF1) und die Sorte 'Deep Purple F1' (DPF1). Durch die Wahl dieser fünf verschiedenfarbigen Sorten wurde das gesamte Farb- und Inhaltsstoffspektrum abgedeckt. Das gefriergetrocknete Material wurde zuerst nach zwei Monaten und im Folgenden im Abstand von einem Monat analysiert. Insgesamt wurde das Material über einen Zeitraum von einem halben Jahr analysiert. Da es nicht sehr wahrscheinlich ist, dass Probenmaterial länger als diese Zeit bis zur Aufarbeitung und Analyse gelagert werden muss, wurden keine länger dauernden Untersuchungen durchgeführt. Zwischen den Analysen wurde das Material unter Licht- und Sauerstoffabschluss bei -68 °C gelagert. Bei jeder Analyse wurden sowohl die Carotinoid- als auch der Polyacetylgehalte und somit der Abbau der Zielsubstanzen über die Zeit bei einer Lagerung bei -68 °C bestimmt.

#### 3.4.2 Trockenmassebestimmung

Angeichts der großen Unterschiede im Wassergehalt der Proben wurde bei der Vorbereitung jeder Probe das Frischgewicht sowie das Gewicht nach der Gefriertrocknung und somit der individuelle Wasserverlust ermittelt. Dieser Wasserverlust wurde nach der Analytik in Form eines Faktors bei der Hochrechnung der Konzentration auf die Frischmasse berücksichtigt. Der Restfeuchtegehalt nach der Gefriertrocknung wurde für die Proben von fünf Genotypen Kulturmöhren und einem Genotyp Wildkarotten mit jeweils einer Wiederholung ermittelt. Dazu wurden jeweils 1 g der frischen Proben in einem Klimaschrank getrocknet, wobei die Temperatur in Intervallen auf 35 °C, 40 °C, 50 °C, 60 °C 70 °C bis 90 °C erhöht wurden. Die Temperaturerhöhungen wurden nach 8, 24, 36, 56, 72 und 80 Stunden durchgeführt. Nach jedem Trocknungsintervall wurden die Proben ausgewogen und die Differenz dokumentiert. Wie aus der Tabelle 3-4-1 zu erkennen ist, unterschieden sich die Restfeuchtegehalte bei Kultur- und Wildkarotten deutlich. Die Restfeuchtegehalte der gefriergetrockneten Pulver der Kulturmöhrenproben betrugen zwischen 4,5 und 7 %. Sie wiesen damit deutlich höhere Restfeuchtegehalte auf als die der untersuchten Wildmöhrenproben. Diese hatte einen Restfeuchtegehalt von 2,5 %. Somit lagen die

Restfeuchtegehalte der Pulver von Kulturmöhrenproben um bis fast das Dreifache höher als die der Wildmöhrenproben.

Der Restfeuchtegehalt nach der Gefriertrocknung lieferte Aufschlüsse über den Grad der Trocknung und daraus folgend über mögliche Wasseraktivität und damit verbundene Enzymaktivität in der gefriergetrockneten und vermahlenden Probe. Zur Minimierung möglicher Lagerverluste durch wasserinduzierte Enzymaktivität wurde das gesamte Probenmaterial bis zum Zeitpunkt der Analytik und nach dieser als Rückstellprobe bei -68 °C unter Lichtabschluss gelagert.

Tabelle 3-4-1: Bestimmung der Restfeuchtegehalte von gefriergetrocknetem Kultur- und Wildmöhrenpulver

Proben-Nr.	Auswaage (g)								Wasserverlust (%)
White Satin (weiß)	1,00	0,99	0,98	0,97	0,97	0,96	0,94	0,93	
	1,00	1,00	0,98	0,98	0,97	0,97	0,94	0,94	6,50
Yellowstone (gelb)	1,00	0,99	0,98	0,98	0,97	0,96	0,95	0,93	
	1,00	0,99	0,98	0,98	0,97	0,97	0,95	0,93	7,00
Nutired (rot)	1,00	0,99	0,98	0,99	0,98	0,97	0,95	0,95	
	1,00	1,00	0,98	0,98	0,98	0,97	0,95	0,95	5,00
Nerac F1 (orange)	1,00	1,00	0,99	0,98	0,98	0,97	0,95	0,94	
	1,00	1,00	0,99	0,99	0,98	0,97	0,96	0,95	5,50
Deep Purple F1 (violett)	1,00	1,00	0,99	0,98	0,98	0,97	0,96	0,95	
	1,00	1,00	1,00	0,99	0,99	0,98	0,96	0,96	4,50
WM-Mischprobe	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,99	0,98	0,98	
	1,00	1,00	1,00	1,00	0,99	0,99	0,97	0,97	2,50
<b>Zeit (h)</b>	<b>8</b>	<b>24</b>	<b>36</b>	<b>48</b>	<b>56</b>	<b>72</b>	<b>80</b>	<b>96</b>	
<b>Temperatur (°C)</b>	<b>35</b>	<b>40</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>60</b>	<b>70</b>	<b>90</b>	<b>90</b>	

### 3.4.3 Probenaufarbeitung der Möhren mittels beschleunigter Lösungsmittelextraktion (ASE)

Bei den oben aufgeführten „klassischen“ Probenaufarbeitungsmethoden für den Nachweis der Inhaltsstoffe von Karotten waren bisher separate Aufarbeitungsmethoden für die Analyse jedes der untersuchten Inhaltsstoffe notwendig, da die Analytik der einzelnen Komponenten nicht zusammengefasst werden konnte, weil sich die Zielkomponenten in ihren chemischen Eigenschaften zu sehr unterscheiden. Um eine verfahrenstechnische Optimierung in diesem Bereich der Analytik zu erreichen, wurde die Möglichkeit einer Zusammenfassung der Probenaufarbeitung für die Carotinoid- und die Polyacetylenanalytik untersucht.

Die Einbeziehung der Aufarbeitungsschritte für den Nachweis von flüchtigen Inhaltsstoffen in eine mögliche simultane Extraktion war nicht möglich, da die dafür nachgeschaltete Analyse mittels GC-MS durchgeführt wurde, die andere Anforderungen an die Probenaufarbeitung stellte als die für die nachgeschaltete Analytik der nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe mittels LC.

Als Basis für die Entwicklung einer simultanen Hochdurchsatzanalytik für die zwei chemischen Zielverbindungen, Carotinoide und Polyacetylene, wurde eine Extraktionsmethode gewählt, die einen hohen Grad an Beschleunigung und Automatisierbarkeit mit einem hohen Maß an Reproduzierbarkeit verbindet, die beschleunigte Lösungsmittlextraktion (Accelerated Solvent Extraction, ASE). Bei der ASE handelt es sich um eine vollautomatische Extraktionseinheit, welche die Zielsubstanzen mit konstantem Druck und konstanter Temperatur unter Verwendung von Lösungsmitteln oder Lösungsmittelkombinationen aus der Probenmatrix herauslöst. Hierfür werden frische oder gefriergetrocknete Proben in, druckdichte Metall-Extraktionshülsen verbracht. Die Hülsen enthalten in Deckel und Boden Öffnungen, die mit Sieben versehen sind und mit Filtern ergänzt werden können.

Die Extraktionshülsen mit den Proben werden auf die eingestellte Temperatur erwärmt, während Lösungsmittel unter Druck durch die Extraktionshülsen gepumpt wird und die Zielsubstanz/-substanzen aus den Proben herausgelöst wird/werden. Der Extrakt wird anschließend in Auffanggefäße gefüllt, die zur Verhinderung von Oxidation des Extraktes durch Luftsauerstoff mit einem Septum nahezu luftdicht verschlossen werden.

Für die Validierung der Extraktion von Carotinoiden und Polyacetylenen mittels ASE wurden Vorversuche unternommen, die die Analyseergebnisse mit den Ergebnissen verglichen, die auf herkömmlichen Extraktionsmethoden beruhten. Hierzu wurden aus Karotten mittels klassischer Extraktionsmethoden Carotinoid- und Polyacetylenextraktionen durchgeführt und die Analyseergebnisse mit den Ergebnissen aus der Anwendung der ASE bei identischem Ausgangsmaterial verglichen. Alle Extraktionsergebnisse wurden mittels HPLC-DAD für die Carotinoide und HPLC-MS für die Polyacetylene quantifiziert. Für die Carotinoidextraktion wurde eine bestehende SPE-Methode mit der ASE und der Soxhlet-Methode verglichen (Abbildung 3-4-2), bei der Polyacetylenextraktion wurde eine Soxhlet-Extraktion mit der ASE und SPE-Methode verglichen (Abbildung 3-4-3). Bei der angewendeten SPE war allerdings zu berücksichtigen, dass ausschließlich der Karottensaft für die Carotinoidbestimmung verwendet wurde, während der Trester verworfen wurde. Als Probenmaterial für den Methodenvergleich wurden zur Abdeckung des gesamten Carotinoidspektrums orangene und rote Kulturmöhren, zum besseren Vergleich des Spektrums an Polyacetylenen Wildmöhren verwendet. Wie den Abbildungen der HPLC-Analysen für Carotinoide und Polyacetylene zu entnehmen ist, lieferte in beiden Fällen die ASE-Methode die besten Extraktionsergebnisse.



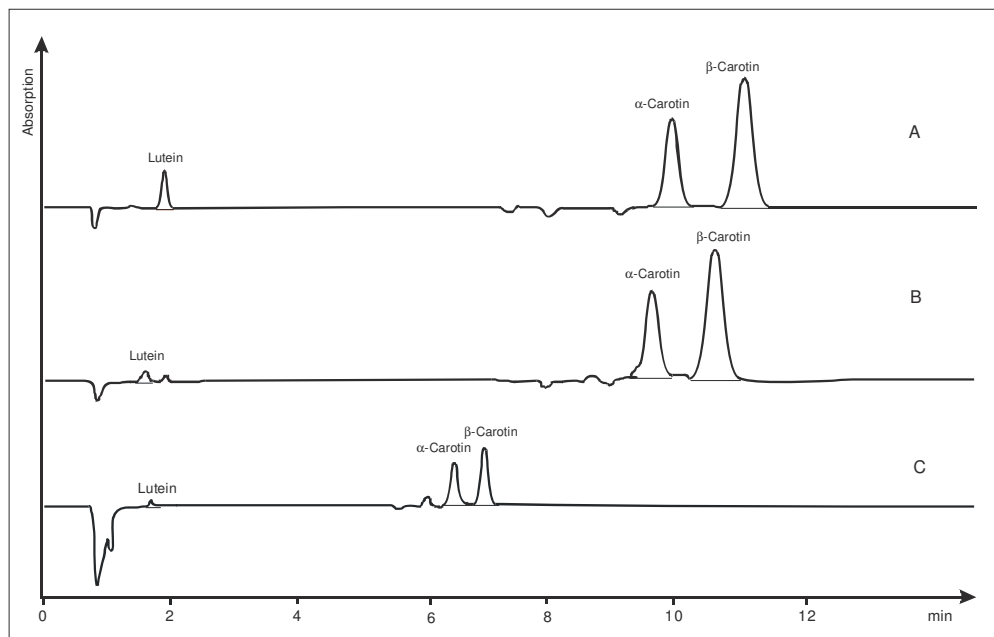


Abbildung 3-4-2: HPLC-Analytik von Lutein,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin unter Verwendung verschiedener Extraktionsmethoden mit ihren charakteristischen Lösungsmitteln. A: ASE, Essigsäureethylester/Petrolether/Methanol (1:1:1, v/v/v); B: Soxhlet, n-Hexan; C: SPE, Methanol/Methylenchlorid (45:55, v/v)

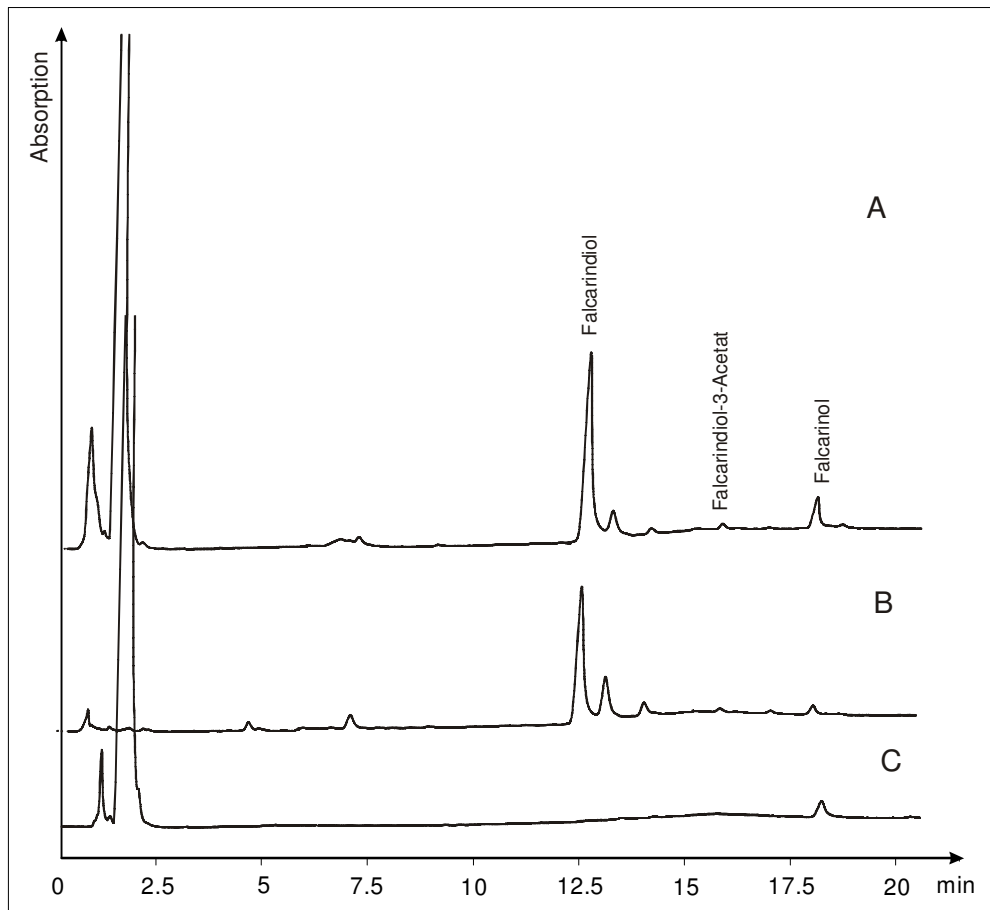


Abbildung 3-4-3: HPLC-Analytik von FaDOH, FaDOH-3-Acetat und FaOH unter Verwendung verschiedener Extraktionsmethoden mit ihren charakteristischen Lösungsmitteln. A: ASE, Essigsäureethylester/Petrolether/Methanol (1:1:1, v/v/v); B: Soxhlet, n-Hexan; C: SPE, Methanol/Methylenchlorid (45:55, v/v)

Als Basis für die beschleunigten Lösungsmittel-Extraktionsmethoden sowohl für die Carotinoide als auch für die Polyacetylene aus Karottenmaterial wurde die Arbeit von Breithaupt [Breithaupt, 2004] zur Extraktion von Carotinoiden aus Karotten mittels ASE herangezogen. Zur Validierung der von Breithaupt beschriebenen Verwendung von gefriergetrocknetem Probenmaterial wurden vergleichende Extraktionsversuche mittels ASE mit Frischmaterial durchgeführt. Die Analysen der Extrakte ergaben, dass bei gleicher Probenmenge der Einsatz von Frischmaterial zu deutlich geringeren Extraktionsgehalten sowohl absolut als auch relativ bezogen auf die gleiche Menge untersuchten Frischmaterials führte (Abbildung 3-4-4).

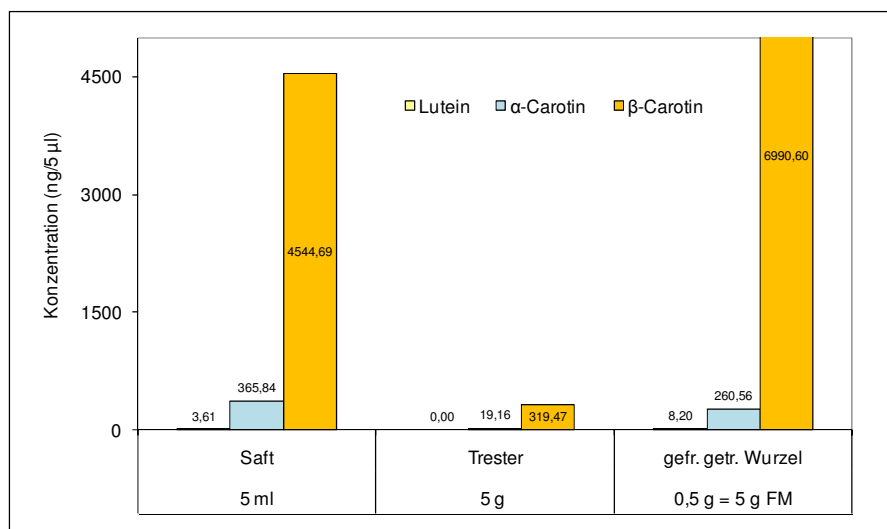


Abbildung 3-4-4: Vergleich der Carotinoideextraktion nach der Methode von Breithaupt (2004) für Karottensaft, Trester und gefriergetrocknetes Karottenpulver

Die Festlegung der Probenmenge an gefriergetrocknetem Karottenpulver für die ASE auf 0,5 g beruhte auf der Notwendigkeit einer Einzelpflanzenanalytik. Bei einem durchschnittlichen Wassergehalt von 88 % bei den Kulturmöhren ist somit eine Frischmenge von ca. 5 g Frischgewicht pro zu analysierender Pflanze notwendig.

Da bisher keine genauen Werte für Wassergehalte von Wildtypen existierten, wurde durch die Wahl einer möglichst geringen Probeneinwaage von 0,5 g gefriergetrocknetem Pulver der potenziell geringen Biomasse der Wurzeln von Wildmöhren Rechnung getragen und so die Möglichkeit der Einzelpflanzenanalytik auch für Wildmöhren sichergestellt.

Die fünf variablen Parameter der ASE für die Extraktion von Substanzen wurden für die Extraktion von Carotinoiden aus der Karottenmatrix nacheinander optimiert und jeder Optimierungsschritt durch eine nachgeschaltete HPLC-DAD-Analyse für die Carotinoide verifiziert. Die fünf Parameter 'Preheat', 'Static', 'Flush', 'Purge' und 'Cycles' können vom Anwender variiert werden, während die sechste Einstellung, die der Heizdauer (Heat), abhängig von der angegebenen Temperatur ist und somit vom Anwender nur bedingt veränderbar ist. Unter dem Parameter 'Preheat' versteht man die Zeit, welche die Extraktionszellen, gefüllt mit Lösungsmitteln, im Zellenofen verweilen, ohne dass frisches Lösungsmittel hinzu- oder das vorhandene Lösungsmittel aus der Zelle abgepumpt wird. Der Parameter 'Static' beschreibt die Haltezeit zwischen jedem neuen Befüllen der Extraktionszelle mit Lösungsmittel, in welcher das Lösungsmittel die Zielsubstanzen aus der Matrix herauslösen kann. Unter dem Parameter 'Flush' wird die prozentuale Menge neuen Lösungsmittels verstanden, die bei jedem Zyklus (Cycle) verwendet wird. Unter der Purgezeit versteht man die Zeit, in der das gesamte Leitungssystem nach dem

Extraktionsprozess mit Stickstoff gespült wird. 'Cycles' bezeichnen die Zahl der Durchgänge, in denen die Extraktionszelle mit Lösungsmittel gespült und wie häufig die statische Haltezeit durchlaufen wird. Die optimalen Parametereinstellungen für die Carotinoidextraktion mittels ASE stellten sich wie folgt dar:

Tabelle 3-4-2: Optimale ASE-Parameter für die simultane Carotinoid- und Polyacetylenextraktion

ASE-Parameter	Wert
Temperature	40 °C
Pressure	70 bar
Preheat	0 min
Heat	5 min
Static	2 min
Flush	70 %
Purge	50 sec
Cycles	3

Da es sich bei den Carotinoiden um eine hitzelabile Substanzklasse handelt, konnte, basierend auf den Ergebnissen von Breithaupt [Breithaupt, 2004], die Temperatur nicht höher als 40 °C gewählt werden. Ähnlich verhielt es sich mit dem Druck, so haben Vorversuche von Breithaupt ergeben, dass sich bei einem Druck höher als 70 bar in gefriergetrocknetem Material Stichkanäle bilden, welche dazu führen, dass das Lösungsmittel diese nutzt und die Extraktionswirkung drastisch abnimmt.

Für die Extraktion von Polyacetylenen aus Möhren mittels ASE waren zum Zeitpunkt der Entwicklung der Analysemethode für diese Arbeit keine Versuche beschrieben. Erst 2009 wurde mit der Arbeit von Pferschy-Wenzig et al. [Pferschy-Wenzig et al., 2009] eine Arbeit veröffentlicht, die sich mit der Extraktion von Polyacetylenen aus gefriergetrockneter Karottenmatrix mittels ASE beschäftigte. Zu diesem Zeitpunkt war die Entwicklung der Analysemethode für die Versuche dieser Arbeit schon abgeschlossen, die Hochdurchsatzanalytik war etabliert und die erarbeitete Methode hatte sich in der Routine bewährt. Die Arbeit von Pferschy-Wenzig et al. konnte daher bei der hier beschriebenen Methodenentwicklung nicht mit berücksichtigt werden. Für die Ermittlung der optimalen Methode zur Extraktion von Polyacetylenen aus Karottenmatrix wurde ein eigener Optimierungsprozess, basierend auf den Vorarbeiten von Breithaupt, durchgeführt. Hierfür wurde wiederum jeder variable ASE-Parameter einzeln und in der Kombination auf die

Polyacetylenextraktion optimiert und mittels HPLC-MS validiert. Es ergab sich eine optimale Parameterkombination für die Extraktion von Polyacetylenen aus Karotten.

Da das Ziel der Methodenentwicklung jedoch die simultane Extraktion von Carotinoiden und Polyacetylenen aus Karotten war, wurden sowohl die ASE-Parameter für die Carotinoideextraktion auf die Extraktion von Polyacetylen und umgekehrt die Extraktionsparameter für Polyacetylene auf die Carotinoideextraktion angewendet. Es stellte sich heraus, dass die ASE-Parameter für die Carotinoideextraktion die besten Ergebnisse in Bezug auf eine simultane Extraktion lieferten. Überdies zeigte sich, dass die Parameter für die Carotinoideextraktion eine deutlich bessere Extraktionsausbeute für die Polyacetylene lieferten als die optimierten Parameter für die Polyacetylenextraktion. Somit konnte für eine simultane Extraktion beider Zielsubstanzen eine einzige ASE-Methode angewendet werden, die jeweils optimale Extraktionsergebnisse für die beiden Zielsubstanzen lieferte.

Neben den Versuchen zur Methode der Extraktion war es notwendig ein optimales Extraktionsmittel zu finden, welches beide Zielsubstanzen bestmöglich extrahiert und sowohl mit der ASE als auch mit der nachgeschalteten HPLC-Analytik kompatibel war. So schied z. B. MTBE (Methyl-tert-Butylether) als Extraktionsmittel aus, da dieses bei der Verwendung in der ASE zu Verstopfungen der Geräte führte. In Anlehnung an Breithaupt [Breithaupt, 2004] wurden drei verschiedene Lösungsmittel ausgewählt und auf ihre simultanen Extraktionseigenschaften unter Verwendung der ASE überprüft. Bei den Lösungsmitteln handelte es sich zum einen um n-Hexan, welches üblicherweise bei der Soxhlet-Extraktion von Polyacetylenen angewendet wird, zum anderen um ein Gemisch aus Ethanol und n-Hexan (4:3, v/v) sowie eine 1:1:1 Mischung aus Essigester, Petrolether und Methanol. Alle drei Lösungsmittelkombinationen wurden für die simultane Extraktion mittels ASE auf ihre Extraktionseigenschaften untersucht und miteinander verglichen. Es zeigte sich, dass die Kombination aus Essigester, Petrolether und Methanol (1:1:1, v/v/v) die besten Extraktionsresultate sowohl für die Carotinoid- als auch für die Polyacetylenextraktion lieferte (Abbildungen 3-4-5 und 3-4-6).

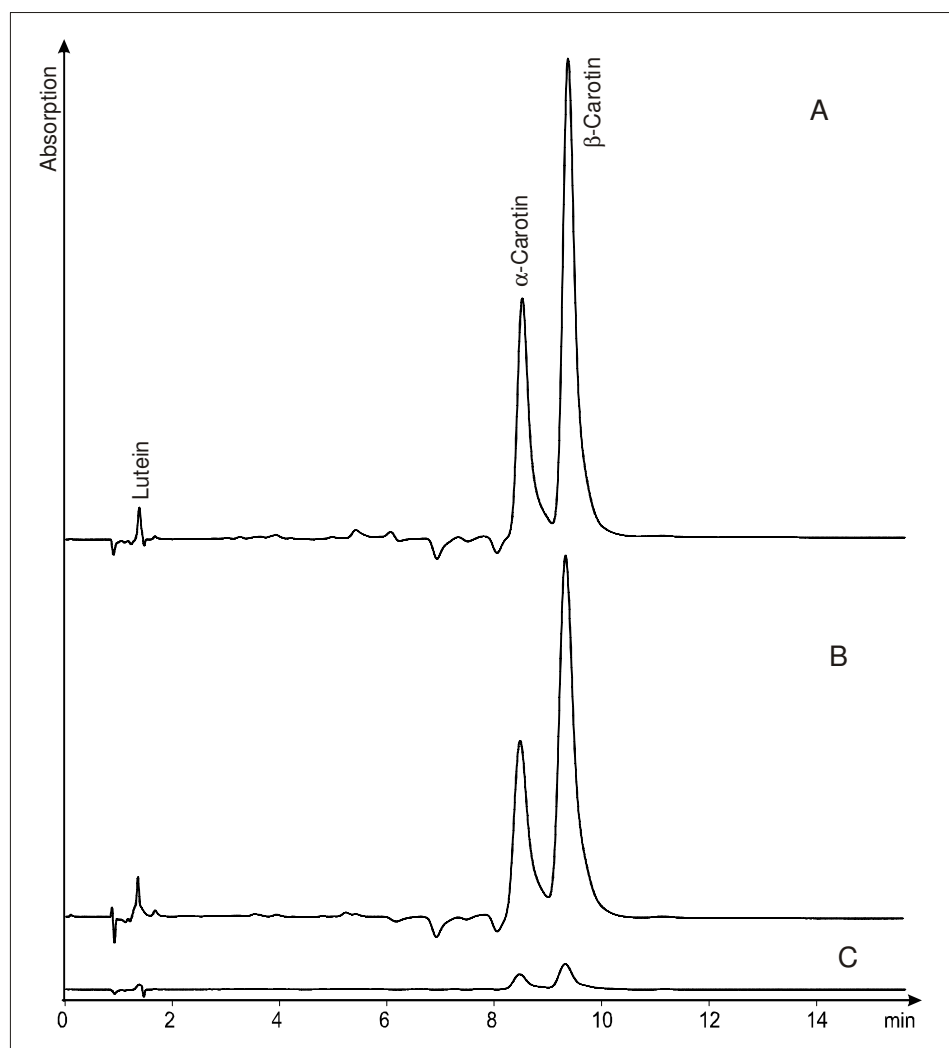


Abbildung 3-4-5: HPLC-Chromatogramm der drei Carotinoide Lutein,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin unter Verwendung der ASE und dreier unterschiedlicher Lösungsmittelgemische: A: Essigsäureethylester/Petrolether/Methanol (1:1:1, v/v/v); B: Ethanol/n-Hexan (4:3, v/v) und C: n-Hexan

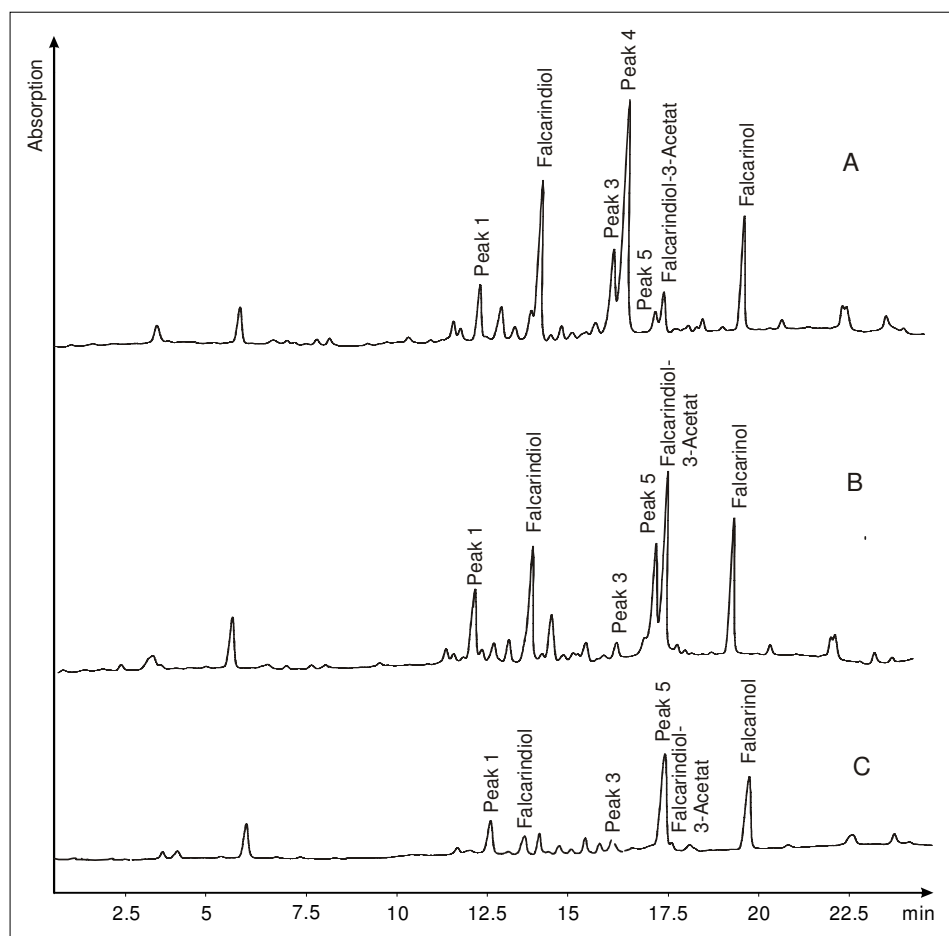


Abbildung 3-4-6: HPLC-Chromatogramm der drei Polyacetylene FaOH, FaDOH und FaDOH-3-Acetat unter Verwendung der ASE und dreier unterschiedlicher Lösungsmittelgemische: A: Essigsäureethylester/Petrolether/Methanol (1:1:1, v/v/v); B: Ethanol/n-Hexan (4:3, v/v) und C: n-Hexan; Peaks 1-5: nicht identifizierte Polyacetylene

Zur Validierung der oben beschriebenen simultanen Extraktion von Carotinoiden und Polyacetylenen wurde eine Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse durchgeführt. Hierzu wurden von verschiedenen Genotypen Kultur- und Wildmöhren jeweils 10 Einwaagen von 0,5 g gefriergetrocknetem Pulver mittels beschleunigter Lösungsmittelextraktion extrahiert und die Reproduzierbarkeit der Extraktion durch nachgeschaltete HPLC-DAD- und HPLC-MS-Analytik überprüft. Es stellte sich heraus, dass die beschriebene gleichzeitige ASE eine Reproduzierbarkeit (prozentuale Standardabweichung) für die vier Carotinoide von 10,44 % für Lutein, 15,57 % für  $\alpha$ -Carotin, 15,63 % für  $\beta$ -Carotin und 16,96 % für Lycopin aufwies. Für die drei Polyacetylene FaOH, FaDOH und FaDOH-3-Acetat ergaben sich prozentuale Standardabweichungen von 4,86 % für FaOH, 6,74 % für FaDOH und 7,03 % für FaDOH-3-Acetat.

Da davon auszugehen war, dass die oben beschriebene ASE-Methode, genau wie die klassischen Extraktionsmethoden, die Carotinoide und Polyacetylene nicht vollständig aus der Karottenmatrix herauslösen kann, war der Grad der Extraktion nach dem ersten

Extraktionsdurchlauf zu bestimmen. Hierfür wurden als Repräsentanten zwei verschiedenfarbige Kulturmöhren, die Sorten 'Nutrired' und 'Nerac F1', gewählt, weil diese zum einen hohe Carotinoidkonzentrationen aufzeigten ('Nerac F1'), zum anderen Lycopin enthielten ('Nutrired'). Dadurch wurde das gesamte Spektrum der zu analysierenden Carotinoide abgedeckt. Von diesen beiden Genotypen wurden jeweils 0,5 g gefriergetrockneten Karottenpulvers in mehreren Durchgängen bis zur vollständigen Farblosigkeit mittels ASE extrahiert. Bei der Extraktion wurde darauf geachtet, dass die erste Extraktion gesondert aufgefangen und weiterverarbeitet wurde. Alle folgenden Proben wurden in einer Sammelprobe zusammengeführt, die anschließend auf den Gehalt an Carotinoiden untersucht wurde. Für die Bestimmung der Extraktionsausbeute in Bezug auf die Polyacetylene wurde analog verfahren und zusätzlich eine polyacetylenreiche Wildmöhre einbezogen. Bei der Bestimmung der Extraktionsausbeute für die Polyacetylene wurde jedoch, im Gegensatz zu den Carotinoiden, vor der endgültigen Beendigung der Extraktion zuerst eine HPLC-MS-Analyse durchgeführt und weitere Extraktionen angeschlossen, solange noch Polyacetylene in der letzten Probe nachgewiesen werden konnten. Aus dem Vergleich der Ausbeute nach der ersten Extraktion mit der aller folgenden Extraktionen konnte zum einen gesehen werden, wie groß die Extraktionsausbeute der ASE in Bezug auf die simultane Extraktion von Carotinoiden und Polyacetylenen ist, zum anderen ein Korrekturfaktor bestimmt werden, mit welchem die anhand der ersten Extraktion gemessenen Carotinoid- und Polyacetylenkonzentrationen multipliziert werden müssen, um den Gesamtgehalt der jeweiligen Substanz in dem Probenmaterial zu ermitteln.

#### 3.4.4 Beschleunigte Probenaufarbeitung mittels Rotations-Vakuum-Konzentrator

An die simultane Extraktion der beiden Zielsubstanzen aus der Karottenmatrix schloss sich die Aufkonzentration der Extrakte an. Die Volumina der Extrakte, welche mittels ASE gewonnen wurden, schwankten geringfügig. Da für die weiterführenden Berechnungen eine definierte Extraktmenge notwendig war, wurde die Extraktmenge von ca. 22 ml, welche nach der Extraktion durch die ASE zur Verfügung stand, auf definierte 2 ml eingengt und in der nachgeschalteten Analytik mittels LC verwendet. Für die Ermittlung der optimalen Methode der Einengung wurden die klassischen Verfahren mit neueren, auf die Anforderungen der Hochdurchsatzanalytik optimierten Verfahren verglichen. Wichtige Parameter, welche die Wahl der Methode maßgeblich beeinflussten, waren die Kosten für Personal und Verbrauchsmittel sowie die Prozessdauer und die Anzahl simultan bearbeitbarer Extrakte. Verglichen wurde die klassische Methode zur Aufkonzentration der Extrakte durch einen Rotationsverdampfer mit einem Stickstoffkonzentrator der Firma Dionex (Dionex SE 400) und dem Rotations-Vakuum-Konzentrator RVC 2-18 der Firma Christ (Osterode). Bei dem



klassischen Verfahren der Extrakteinengung durch einen Rotationsverdampfer wurde jeweils das Lösungsmittelgemisch aus Essigsäureethylester, Petrolether und Methanol (1:1:1, v/v/v) aus dem Extrakt einer Probe unter Vakuum in einem Rundkolben, welcher in einem temperierten Wasserbad rotierte, verdampft. Im Falle dieser klassischen Aufkonzentrationsmethode waren besonders der hohe manuelle Aufwand sowie die zeitintensive Bearbeitung jeweils nur einer Probe nachteilig. Bei der zweiten Variante handelte es sich um den Stickstoffkonzentrator der Firma Dionex. Bei diesem Gerät, welches speziell auf die ASE abgestimmt ist, können sechs Probenauffanggläser aus der ASE direkt in sechs beheizte Stellflächen verbracht werden. Durch in der Höhe variierbarer Kapillare strömt hierbei Stickstoff auf die Probe und verdampft somit unter Einwirkung von Temperatur das Lösungsmittelgemisch. Bei dieser Variante war neben dem hohen Stickstoffbedarf der hohe manuelle Aufwand auffällig, der durch das Nachjustieren der Kapillaren erforderlich wurde. Die dritte Möglichkeit zur Aufkonzentration bestand in der Verwendung eines Rotations-Vakuum-Konzentrators. Hierbei werden sechs Probenauffanggläser aus der ASE in ein spezielles Probenkarussell verbracht, welches anschließend unter Anlegen eines Vakuums und bei einer Temperierung des Heizmantels stark rotiert. Durch die auftretenden Zentrifugalkräfte, die Temperatur und das Vakuum wird das Lösungsmittel verdampft, gleichzeitig aber verhindert, dass das Lösungsmittel während des Konzentrationsprozesses die Probenauffanggläser durch das Auftreten von Siedeverzögerung verlässt. Durch den hohen Grad der Automatisierbarkeit, den fehlenden Stickstoffbedarf sowie die simultane Aufkonzentration von sechs Proben war der Rotations-Vakuum-Konzentrator der Firma Christ, in Bezug auf eine Hochdurchsatzanalytik, die beste Möglichkeit der Extraktaufkonzentration.

Durch Vorversuche konnte die optimale Kombination aus Zeit und Temperatur ermittelt werden, sodass weder die Zielsubstanzen thermisch beschädigt wurden noch die Aufkonzentration zu zeitintensiv wurde. Nach dem simultanen Einengen der Proben bei 35 °C wurden Probenreste, welche sich an den Glaswänden durch die Zentrifugalkräfte festgesetzt hatten, mittels Ultraschallbad (Bandelin Electronic, Berlin) in 1-2 Minuten gelöst. Nach der Aufkonzentrationsdauer von 125 Minuten waren die Extrakte bis auf Restvolumina von  $\leq 2$  ml eingedampft. Somit mussten die Extrakte nach dem Ultraschallbad noch in graduierte Probenröhrchen überführt und gegebenenfalls mit dem Extraktionsmittelgemisch (Essigsäureethylester/Petrolether/Methanol; 1:1:1, v/v/v) auf 2 ml aufgefüllt werden. Bevor die Extrakte für die HPLC-Analyse injiziert werden konnten, wurden diese noch durch einen Spritzenvorsatzfilter (PET, 0,45  $\mu$ m) gefiltert und in zwei Vials überführt, welche zum einen in einer HPLC-DAD für die Carotinoid- Analytik analysiert und zum anderen mittels HPLC-MS auf Polyacetylene untersucht wurden.

#### 3.4.5 Probenaufarbeitung für die Analytik von Zuckern

Sowohl für die Probenaufarbeitung als auch für den analytischen Nachweis der Mono- und Disaccharide (Glucose, Fructose und Saccharose) wurden eigenständige Methoden angewendet. Als Basis für die Zuckanalytik wurde gefriergetrocknetes und vermahlene Pulver verwendet. Die Mono- und Disaccharide wurden aus 0,1 g gefriergetrocknetem Probenmaterial mit 3,9 ml eines Extraktionsmittelgemisches, bestehend aus Acetonitril und Wasser (80:20, v/v), durch Schütteln auf einem Schüttler der Firma IKA Labortechnik (Modell HS-250) über 15 Minuten bei 240 U/min herausgelöst. Für die anschließende Analytik mittels einer HPLC-RI wurde der Überstand durch einen Spritzenaufsatzfilter (PET, 0,45 µm) in HPLC-Vials filtriert.

#### 3.4.6 Probenaufarbeitung für die Analytik von flüchtigen Inhaltsstoffen

Die Analytik auf flüchtige Inhaltsstoffe sowohl in der Karottenwurzel als auch im Blatt wurde durch eine HS-SPME-GC durchgeführt. Hierfür wurde das Probenmaterial sofort nach der Ernte in flüssigem Stickstoff eingefroren und bis zur weiteren Probenaufarbeitung bei -68 °C im Tiefstkuhlschrank gelagert. Das tiefgefrorene Probenmaterial wurde in der Probenvorbereitung grob zerkleinert und im Verhältnis 1:1,5 mit einer 20 % (v/v) Natriumchloridlösung für 1 Minute mittels eines Pürierstabes fein zerkleinert. Das Homogenisat wurde anschließend bei 4 °C und einer Umdrehungszahl von 4000 U/min für 30 Minuten zentrifugiert. Von dem Überstand jeder Probe wurden jeweils 10 ml in vier Vials gefüllt, welche mit 3 g Natriumchlorid gefüllt waren. Damit wurden das Wasser gebunden und die Enzymaktivitäten in der Probe weitgehend verhindert. Die Vials mit dem aufgearbeiteten Probenmaterial wurden mit magnetischen Kappen, welche ein Septum enthielten, verschlossen und bis zur Analyse bei -20 °C gelagert [Dunemann et al., 2009].

#### 3.4.7 Identifizierung und Quantifizierung von Carotinoiden in Karotten mittels HPLC-DAD

Für den Nachweis der Ziel-Carotinoide  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin, Lutein und Lycopin mittels HPLC-DAD wurde in Anlehnung an die Methoden von Silmestad et al. sowie Vasquez-Caicedo et al. eine beschleunigte und auf den ausschließlichen Nachweis der vier Zielcarotinoide optimierte HPLC-Analyse verwendet [Vasquez-Caicedo et al., 2006; Silmestad und Verheul, 2005]. Bei der Optimierung lag der Schwerpunkt auf der Beschleunigung der Analyse bei einer gleichzeitigen sauberen Peaktrennung der vier Zielcarotinoide. Die Qualifizierung und Quantifizierung der Zielcarotinoide erfolgte, wie in Abschnitt 3.2 beschrieben, für alle vier Carotinoide durch Kalibration mithilfe von Reinstsubstanzen. Durchgeführt wurde der

Nachweis der Carotinoide mittels einer HPLC-DAD. Die Trennung der Carotinoide erfolgte durch eine Develosil RP-Aqueous C30 (150 x 3 mm, 3 µm)-Säule, welche durch eine 60 mm x 0,12 mm Verbindungskapillare und eine Vorsäulenfritte (Ø 4.6 mm) vor Verschmutzung geschützt wurde. Die Säulentemperatur lag während der gesamten Analyselaufzeit hinweg bei konstant 30 °C. Die mobile Phase bestand aus n-Butanol (A) und Acetonitril (B). Diese beiden Komponenten wurden bei einem konstanten Fluss von 0,95 ml/min in einem linearen Gradientengemisch über eine Gesamtzeit von 16 Minuten gemischt: (min/% A): 0/20; 6/30; 12/20; 16/20. Das Injektionsvolumen betrug für alle Proben 10 µl. Während α-Carotin und Lutein bei einer Wellenlänge von 488 nm detektiert wurden, wurde β-Carotin bei 455 nm und Lycopin bei 476 nm detektiert. Die Auswertung der erhobenen Daten wurde mit der Software ChemStation der Firma Agilent Version B.03.03 durchgeführt. Wie der Abbildung 3-4-7 zu entnehmen ist, konnte durch die oben beschriebene Methode eine saubere Trennung aller vier Carotinoide, auf welche die Karottenwurzeln untersucht werden sollten, erreicht werden.

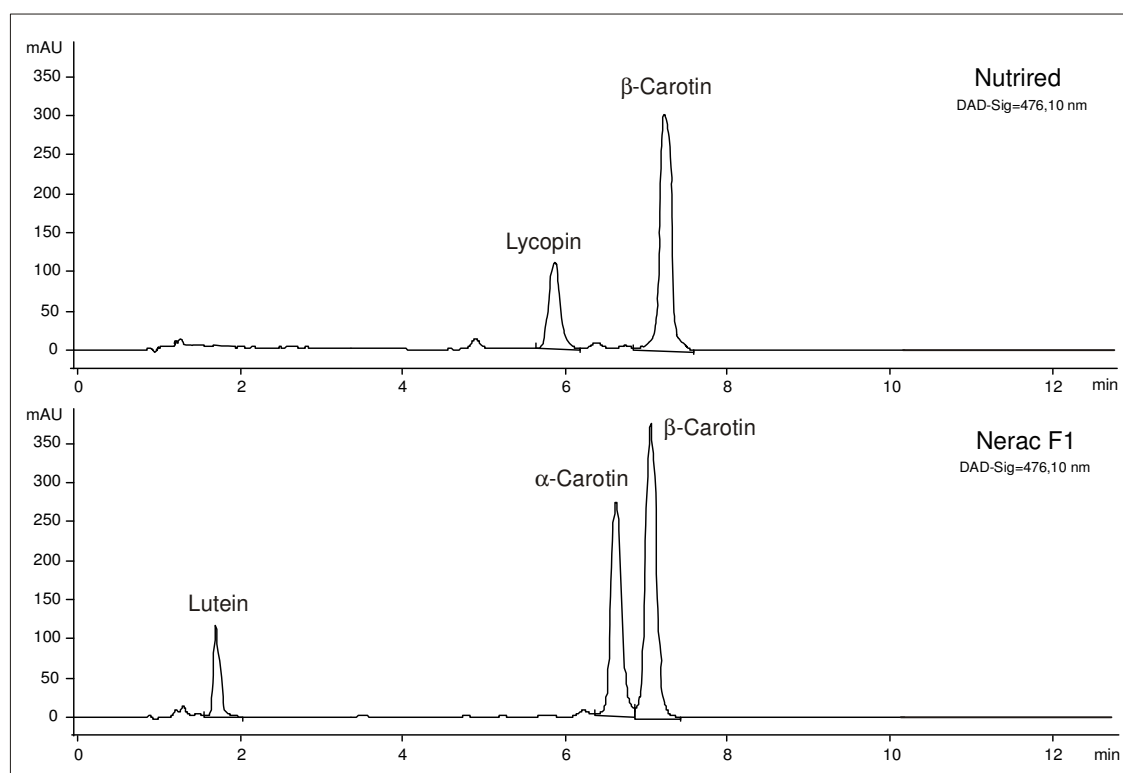


Abbildung 3-4-7: HPLC-Chromatogramm zweier verschiedener Karottensorten, bei sauberer Trennung der Carotinoide. A: 'Nutrired', B: 'Nerac F1'

Für die Überprüfung der Reproduzierbarkeit der HPLC-Anlage unter den festgelegten Parametern wurden 10 Injektionen aus einem Vial überprüft und die prozentuale Standardabweichung (s %) für alle vier Carotinoide, nach der Formel  $\text{Stabw} \cdot 100/\text{MW}$ , errechnet. Es ergaben sich folgende prozentuale Standardabweichungen für die Carotinoide:

Lutein 0,27 %,  $\alpha$ -Carotin 0,46 %,  $\beta$ -Carotin 0,19 % und Lycopin 2,19 %. Die HPLC-Analytik zeigte damit für alle vier Zielcarotinoide sehr gute bis gute prozentuale Standardabweichungen. Da es bei HPLC-Anlagen durchaus möglich ist, dass sie den Analyselauf aufgrund von Störungen abbrechen und somit die Analytik nicht abgeschlossen wird, wurde untersucht, wie sich die Carotinoide während einer 24-stündigen Standzeit im Probengeber der HPLC, gekühlt bei 10 °C, verhielten. Dafür wurden 10 Injektionen von einer Probe auf Polyacetylene analysiert, diese Proben 24 Stunden in der HPLC-Anlage belassen und erneut 10 Injektionen aus demselben Vial analysiert. Es zeigte sich an den prozentualen Standardabweichungen für die Carotinoide (Lutein: 30,44 %;  $\alpha$ -Carotin: 25,32 %,  $\beta$ -Carotin: 26,42 % und Lycopin: 22,45 %), dass diese während der Lagerzeit in der HPLC-Anlage deutlich instabil geworden waren.

#### 3.4.8 Identifizierung und Quantifizierung der Polyacetylene mittels HPLC-MS

Für die Identifikation und Quantifikation der drei Zielpolyacetylene Falcarinol (FaOH), Falcarindiol (FaDOH) und Falcarindiol-3-Acetat (FaDOH-3-Acetat) in Karottenmaterial wurde eine HPLC der 1200 Serie der Firma Agilent, gekoppelt mit einem Esquire 3000 Massenspektrometer mit Ionenfalle und APCI-Quelle von Bruker Daltronik GmbH, Bremen, verwendet. Als HPLC-Säule kam eine Zorbax Eclipse XDB-C18 (150 x 3 mm; 3,5  $\mu$ m) mit einer Verbindungskapillare (60 mm x 0,12 mm) und einer Vorsäulenfritte ( $\varnothing$  4.6 mm) zum Einsatz. Die Säulentemperatur wurde auf 30 °C festgelegt. Zur Auswertung der erhobenen HPLC- und MS-Daten wurden zum einen die Agilent ChemStation Software (B 01.03) und zum anderen die Bruker Esquire Control (Version 5.3) Software verwendet. Alle Polyacetylene wurden bei 245 nm vermessen. Als mobile Phase wurde ein Gemisch aus Wasser (A) und Methanol (B) verwendet, wobei ein über eine Gesamtzeit von 35 Minuten der folgende Gradient bei einem konstanten Fluss von 0,5 ml/min gefahren wurde (min/% A): 0/40; 24/5; 27/5; 29/40; 35/40. Das Injektionsvolumen wurde für alle Proben auf 5  $\mu$ l festgelegt. Für die Detektion der Polyacetylene mittels Massenspektrometer wurden folgende Parameter ausgewählt: Die APCI-Quelle arbeitet im positiven Modus, das Vernebelungsgas (Stickstoff) strömt bei einem Druck von 25,0 psi, das Trockengas (Stickstoff) bei einem Fluss von 9,0 l/min, die Trocknungstemperatur lag bei 300 °C, die Verdampfungstemperatur bei 450 °C und die Scanrate lag zwischen 50 und 900 m/z. Für die Quantifizierung der drei Zielpolyacetylene wurden, wie unter Punkt 3.2.2.2 aufgeführt, für Falcarinol und Falcarindiol Referenzsubstanzen erworben. Der Gehalt des Falcarindiol-3-Acetats in Karotten wurde basierend auf der Kalibration des Falcarindiols ermittelt. Wie der Abbildung 3-4-8 zu entnehmen ist, konnte durch die oben beschriebene Methode eine saubere Peaktrennung der einzelnen Polyacetylene innerhalb einer Laufzeit von 35 Minuten erreicht werden.

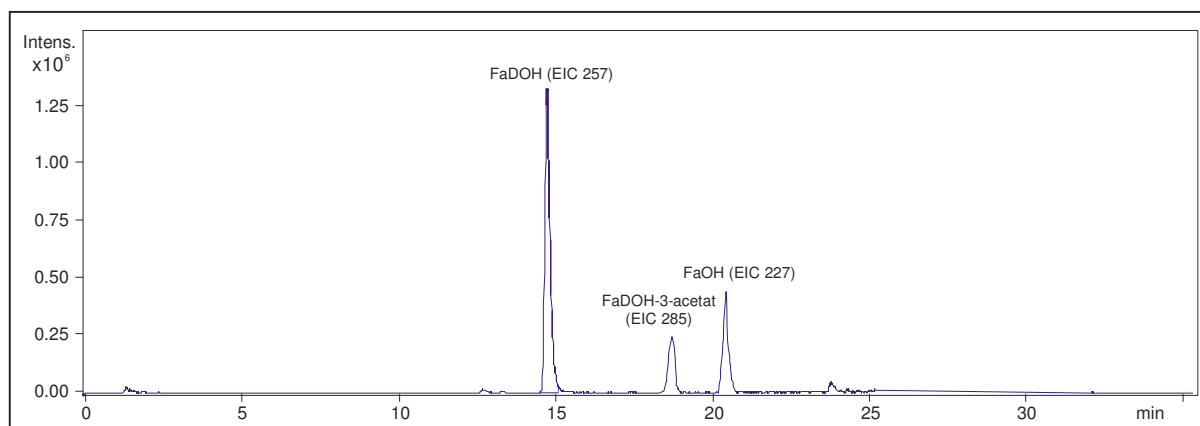


Abbildung 3-4-8: Extracted Ion Chromatogram (EIC) und saubere Peaktrennung der drei Zielpolyacetylene FaDOH, FaDOH-3-Acetate und FaOH unter Verwendung der optimierten HPLC-MS-Methode

Bei der Auswertung der drei Zielpolyacetylene wurde für jedes ein „extracted ion chromatogram“ mit den Zielmassen 227, 257, 285 für Falcarindiol, Falcarindiol-3-Acetate und Falcarinol erstellt und deren Gehalt bestimmt. Die genaue Fragmentierung der drei Polyacetylene bei dem verwendeten Fließmittel ist in den folgenden Abbildungen dargestellt.

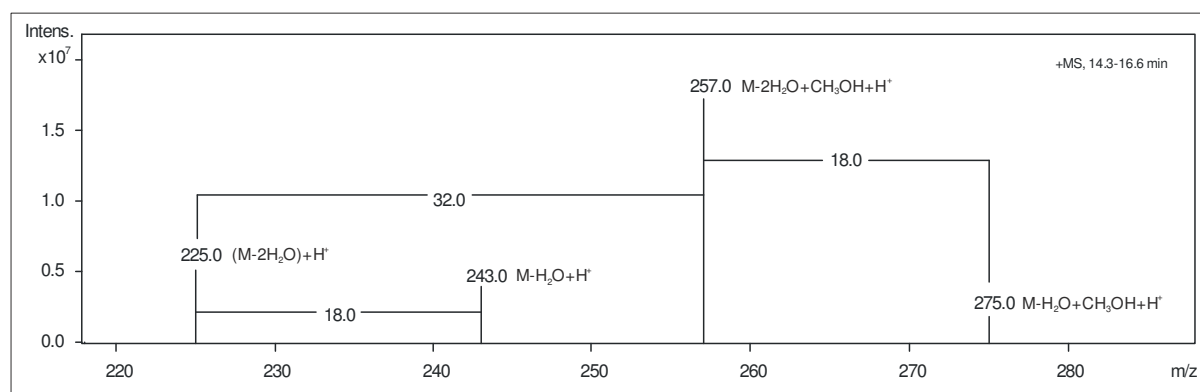


Abbildung 3-4-9: Fragmentierung des Polyacetyls Falcarindiol

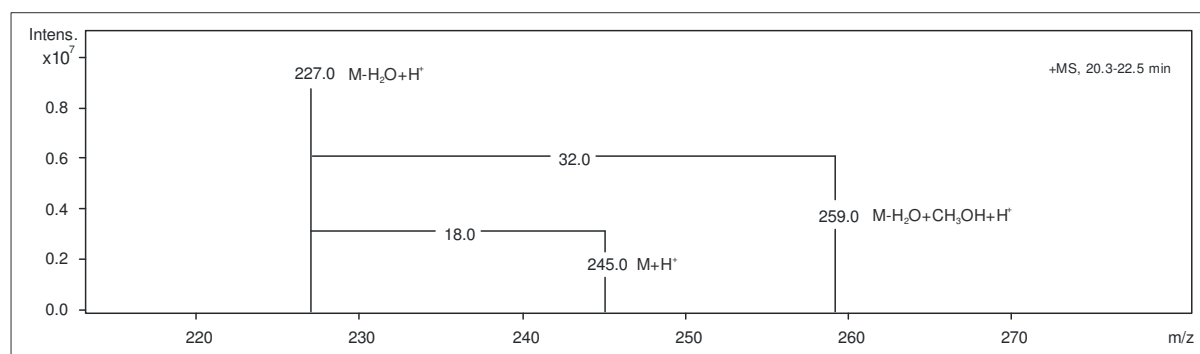


Abbildung 3-4-10: Fragmentierung des Polyacetyls Falcarinol

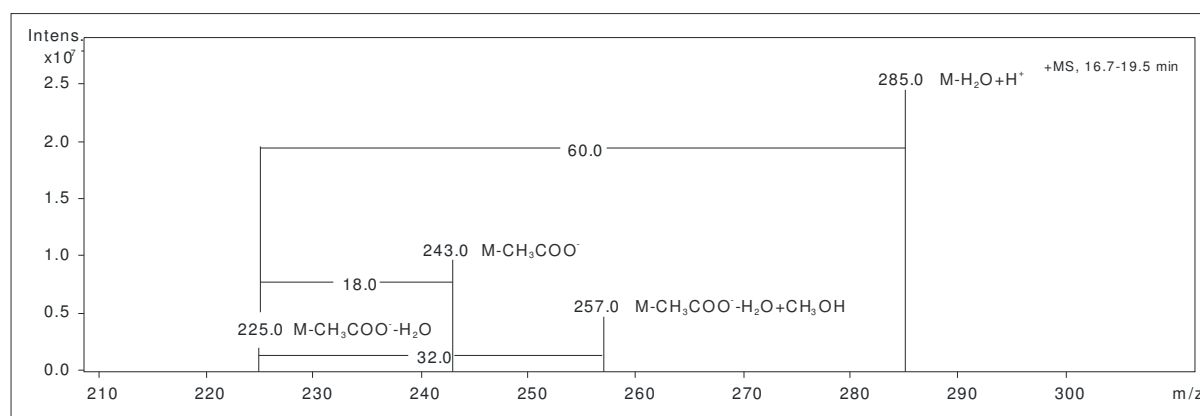


Abbildung 3-4-11: Fragmentierung des Polyacetylens Falcarindiol-3-Acetat

Die Überprüfung der Reproduzierbarkeit der HPLC-Anlage wurde analog zu der der HPLC-Anlage zur Bestimmung der Carotinoide durchgeführt. Es ergaben sich folgende prozentuale Standardabweichungen für die drei Polyacetylene: FaOH 2,47 %, FaDOH 1,52 % und FaDOH-3-Acetat 3,14 %. Die HPLC-Analytik zeigte damit für alle drei Zielpolyacetylene sehr gute prozentuale Standardabweichungen. Da es auch bei der HPLC-Analyse, mit welcher die Polyacetylenanalytik durchgeführt wurde, ebenfalls durchaus möglich ist, dass diese den Analyselauf aufgrund von Störungen abbrechen und somit die Analytik nicht abgeschlossen werden kann, wurde ebenfalls untersucht, wie sich Polyacetylene während einer 24-stündigen Standzeit im Probengeber der HPLC, gekühlt bei 10 °C, verhielten. Dafür wurden 10 Injektionen von einer Probe auf Polyacetylene analysiert, diese Proben 24 Stunden in der HPLC-Anlage belassen und erneut 10 Injektionen aus demselben Vial analysiert. Es zeigte sich an den prozentualen Standardabweichungen für die drei Polyacetylene (FaOH: 10,35 %; FaDOH: 2,28 % und FaDOH-3-Acetat: 5,35 %), dass diese trotz der Lagerung in der Anlage relativ stabil blieben.

Zur Validierung der ermittelten Polyacetylenresultate wurde nachträglich ein Vergleich zwischen der hier verwendeten Methode zur simultanen Analyse von Karottenmaterial auf Polyacetylene und Carotinoide und der Methode zur Bestimmung von FaOH von Pferschy-Wenzig et al., 2009 [Pferschy-Wenzig et al., 2009], die ebenfalls auf einer Extraktion durch eine ASE aus gefriergetrocknetem Karottenmaterial basiert, vorgenommen. Die Methoden unterscheiden sich in den Parametern der ASE und dem verwendeten Extraktionsmittel sowie in der nachgeschalteten Probenbearbeitung. Für eine möglichst hohe Vergleichbarkeit wurde für beide Methoden die Kulturmöhre 'Nerac F1' verwendet. Da Pferschy-Wenzig et al. die Karottenproben ausschließlich auf das Polyacetylen FaOH untersuchten, wurden die Werte für FaDOH und FaDOH-3-Acetat basierend auf den HPLC-Ergebnissen in Milliaufs dargestellt. Die HPLC-Parameter für die Analyse beider Extrakte waren dieselben wie die in

dieser Arbeit dargestellten. Wie der Abbildung 3-4-12 zu entnehmen ist, zeigte sich, dass die im Zuge dieser Arbeit entwickelte Methode etwas bessere Extraktionsergebnisse für das Polyacetylen FaOH liefert. Auch ein Vergleich der hier gemessenen Werte mit den aufgrund der Daten von Pferschy-Wenzig et al. für FaDOH- und FaDOH-3-Acetat errechneten Werte zeigt für die hier gemessenen Werte deutlich bis leicht bessere Ergebnisse als sie durch die Extraktionsmethode von Pferschy-Wenzig et al. vermutlich erzielt werden könnten.

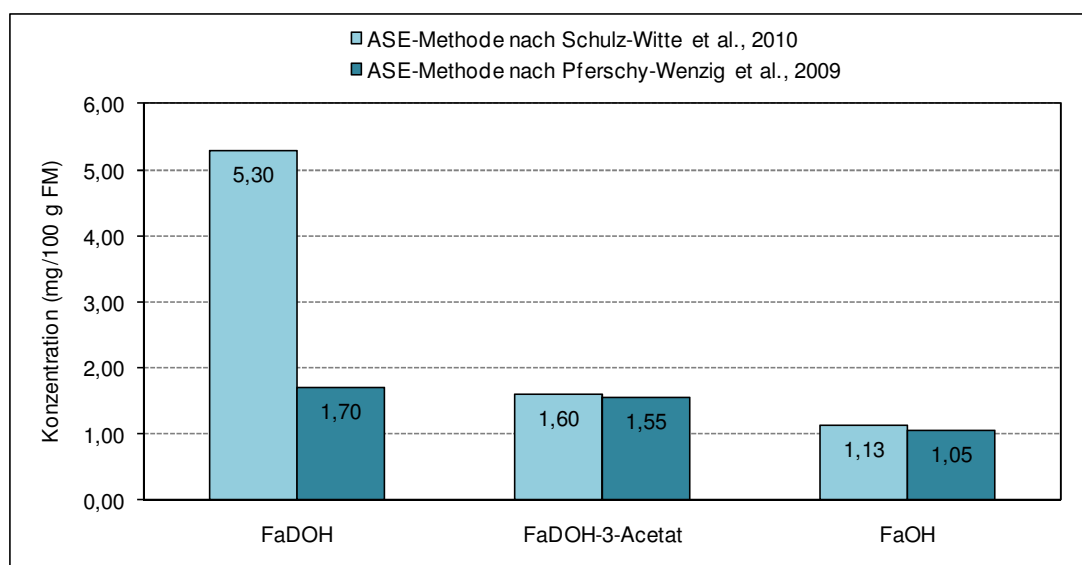


Abbildung 3-4-12: ASE-Extraktionsvergleich zwischen den Methoden von Schulz-Witte et al., 2010 [Schulz-Witte et al., 2010] und Pferschy-Wenzig et al., 2009 [Pferschy-Wenzig et al., 2009]. Die Werte für FaDOH und FaDOH-3-Acetat von Pferschy-Wenzig wurden basierend auf ihrer Berechnung für das FaOH ermittelt.

### 3.4.9 Identifizierung und Quantifizierung von Zuckern mittels HPLC-RI

Bei der Identifikation und Quantifizierung der Zuckerzusammensetzung in Möhren wurde auf die beiden Monosaccharide Glucose und Fructose sowie das Heterodimer Saccharose als Zielsubstanzen analysiert. Für die Analytik wurde, wie in Abschnitt 3.2 beschrieben, eine Kalibration, ausgehend von Referenzsubstanzen, durchgeführt. Wie im Punkt 3.4.5 beschrieben, wurden die Proben für die Zuckeranalytik separat aufgearbeitet. Die Detektion der Zucker wurde mittels RI-Detektor durchgeführt, wobei die Trennung der Zucker durch eine HPLC-Säule des Typs Supelcosil LC NH<sub>2</sub> (250 x 4,6 mm ID; 5 µm) mit einer C18-Vorsäulenkartusche erfolgte. Die Säulentemperatur wurde auf 25 °C festgelegt bei einem konstanten isokratischen Fluss von 0,5 ml/min und einer Gesamtlaufzeit von 35 Minuten. Als mobile Phase wurde ein 80:20 (v/v)-Gemisch aus Acetonitril (ACN) und Wasser verwendet. Für alle Proben wurde ein Injektionsvolumen von 10 µl festgelegt. Analog zu den Bestimmungen der Reproduzierbarkeiten der Ergebnisse der Carotinoid- und Polyacetylenanalytik mittels der HPLC-Anlagen wurde auch bei der Zuckeranalytik der Grad der Reproduzierbarkeit für die HPLC-Anlage ermittelt. Es ergaben sich prozentuale

Standardabweichungen für Glucose von 0,60 %, für Fructose von 0,72 % und für Saccharose von 0,84 %.

Da es wie bei den HPLC-Anlagen für die Carotinoid- und Polyacetylenanalytik auch bei der HPLC-Anlage für die Zuckeranalytik zu möglichen Ausfällen kommen kann, wurde auch bei den untersuchten Zuckern bestimmt, wie sich diese bei einer 24-stündigen Standzeit im Probengeber verhalten. Hierfür wurden, wie bei den Carotinoiden und Polyacetylenen, 10 Injektionen von einer Probe auf den Zuckergehalt untersucht und von dieser Probe wiederum 10 Injektionen aus demselben Vial analysiert, nachdem diese Probe 24 Stunden in der HPLC-Anlage belassen wurde. Es zeigte sich an den prozentualen Standardabweichungen für die drei Zucker (Fructose: 1,20 %; Glucose: 0,72 % und Saccharose: 0,46 %), dass diesen eine 24-stündige Standzeit im Probengeber der Anlage sehr wenig ausmachte. Dies ist vor allem durch eine partielle Phasentrennung zu erklären.

#### 3.4.10 Analytik der flüchtigen Inhaltsstoffe mittels HS-SPME-GC innerhalb des JKI-ÖPV

Für die Analytik der flüchtigen Inhaltsstoffe in Karottenblättern wurden pro Probe drei einzelne Extraktionen durchgeführt, zwei der gewonnenen Extrakte wurden analysiert, während der dritte als Rückstellmuster für eine spätere Analytik oder zur weiterführenden Identifikation unbekannter flüchtiger Inhaltsstoffe mittels GC-MS diente. Die Head-Space Solid Phase Microextraction (HS-SPME) wurde unter Verwendung einer 100 µm Polydimethylsiloxan-Faser sowie eines MPS2 Autosamplers von Gerstel durchgeführt. Die Äquilibrationszeit vor der Absorption betrug 10 Minuten bei 35 °C und einer Schüttelfrequenz von 300 U/min. Anschließend wurde das Septum durchstoßen und die Faser für 15 Minuten bei 35 °C und kontinuierlichen Schütteln der Probe der Gasphase im Kopfraum ausgesetzt. Die sich anschließende thermische Desorption der Analyte erfolgte für 2 Minuten in dem Injektor im splitless Modus bei 250 °C. Anschließend folgte die thermale Reinigung der Faser für 3 Minuten bei 250 °C und einer Splitrate von 1:10. Die Analyse wurde mit einem Gaschromatographen der Firma Agilent mit Flammenionisations-Detektor (FID) durchgeführt. Für die Detektion der flüchtigen Inhaltsstoffe wurde eine polare Säule von 30 m Länge verwendet. Die Temperatur des Flammenionisationsdetektors betrug 250 °C. Als Trägergas wurde Wasserstoff mit einer Flussrate von 1,1 ml/min verwendet. Die Temperatur im Säulenofen wurde für 5 Minuten bei 45 °C gehalten und stieg anschließend auf 210 °C bei 5 K/min; bei 210 °C wurde die Temperatur für 15 Minuten gehalten. Zur Identifikation der flüchtigen Inhaltsstoffe in Karotten wurden typische Chromatogramme ausgewählt und die dazugehörigen Proben mittels GC-MS identifiziert. Für die Identifikation der Peaks wurde ein identischer Gaschromatograph mit einem Agilent 5973 MDS in Electron Impact Ionisation mit



70 eV-Elektronen verwendet. Die Parameter für die vorgeschaltete GC waren dieselben wie bei der Analytik mittels FID. Als Bibliotheken (library) für die Identifikation der flüchtigen Inhaltsstoffe wurden die Wiley 138, die NIST 02 und die HPCH 1607 (Allured Corp., Carol Stream, USA) verwendet.

Zur Verarbeitung der gewonnenen Daten für die sogenannte „non-targeted“-Analyse der flüchtigen Inhaltsstoffe wurde das Programm CHROMSTAT 2.6 von Analyt, Müllheim zur Mustererkennung verwendet. Als Datengrundlage dienten die Grenzen der Retentionszeiten, zwischen welchen die Peaks liegen, sowie deren Peakflächen. Diese Daten wurden mit der Auswertungssoftware ChemStation von Agilent, Böblingen erhoben. Das Peakmuster, welches durch CHROMSTAT generiert wurde, wurde als Excel-Datensatz ausgegeben und umfasste neben den Retentionszeitfenstern für die einzelnen Peaks auch deren Peakfläche. Für eine bessere Übersichtlichkeit wurde angestrebt so viele Peaks wie möglich zu identifizieren und die nachgeschalteten statistischen Verrechnungen der Daten mit den bekannten Inhaltsstoffen durchzuführen.

In vorgeschalteten hausinternen Versuchen konnte nachgewiesen werden, dass mehr als 95 % des Spektrums an flüchtigen Inhaltsstoffen der Karotte durch 20-30 Aromakomponenten abgedeckt wird, welche identifiziert werden konnten. Zu beachten ist jedoch, dass eine Verrechnung mit einem nicht zielgerichteten Ansatz gerade interessante Ausreißer erfasst, während bei einer statistischen Verrechnung mit 20-30 bekannten Aromakomponenten der Karotte die Möglichkeit besteht, eventuell vorhandene Ausreißer durch einen eingeschränkten Datensatz zu übersehen.

#### 3.4.11 Methoden der statistischen Verrechnung

Durch die Verwendung statistischer Auswertalgorithmen, speziell das der PCA als Auswertungsmittel, werden zwei Vorzüge dieser Art der Datenaufbereitung genutzt. Zum einen werden die, durch ihre große Anzahl, leicht unüberschaubaren Datenmengen „aufkonzentriert“, ohne dass der Informationsgehalt verloren geht oder einzelne Genotypen unberücksichtigt bleiben. Gleichzeitig verschafft diese Form der Daten dem Betrachter durch ihren hohen Grad der Übersichtlichkeit sehr schnell einen strukturierten Überblick und bringt überdies die interessanten Ausreißer sehr deutlich zum Vorschein, zum anderen können durch die PCA sehr deutlich die Beziehungen innerhalb eines untersuchten Stichprobenraums in einer komplexen Abbildung grafisch dargestellt werden.

Sämtliche statistischen Auswertverfahren wurden mit den Programmen Microsoft Excel 2003/2007 und Statistica Version 7.1 (StatSoft Inc., Hamburg) durchgeführt. Die genauen

Berechnungsparameter der jeweiligen Analysen sind in den Abbildungsunterschriften aufgeführt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ergebnisse der Methodenentwicklung

Im Zuge dieser Arbeit wurde eine Extraktionsmethode zur simultanen Extraktion von Carotinoiden und Polyacetylenen aus gefriergetrocknetem Karottenpulver entwickelt. Zur Validierung dieser Methode sind unter 3.4.3 einige der durchgeführten Versuche, die im Zuge der Methodenentwicklung und Validierung notwendig waren, beschrieben worden. Im Folgenden werden die Ergebnisse der zusätzlich durchgeführten Versuche, welche zur Validierung der entwickelten Methode, der nachgeschalteten Analytik oder des verwendeten Probenmaterials unternommen wurden, präsentiert.

#### 4.1.1 Ergebnisse des Gefrierlagerungsversuchs

Wie unter Punkt 3.4.1 angesprochen, wurden über einen Zeitraum von einem halben Jahr Gefrierlagerungsversuche durchgeführt, um die Lagerstabilität des Probenmaterials zu ermitteln und ggf. einen Korrekturfaktor zur Berechnung der Gehalte für die Zielsubstanzen zu ermitteln. Wie der Abbildung 4-1-1 zu entnehmen ist, verändern sich die Lutein-,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotinkonzentrationen innerhalb des untersuchten Zeitraums für alle fünf untersuchten Genotypen nur sehr geringfügig. Zu erkennen ist jedoch, dass in einzelnen Fällen die Konzentrationen nach einem Lagerungszeitraum von vier Monaten instabil werden und in geringem und unterschiedlichem Maße zu schwinden beginnen.

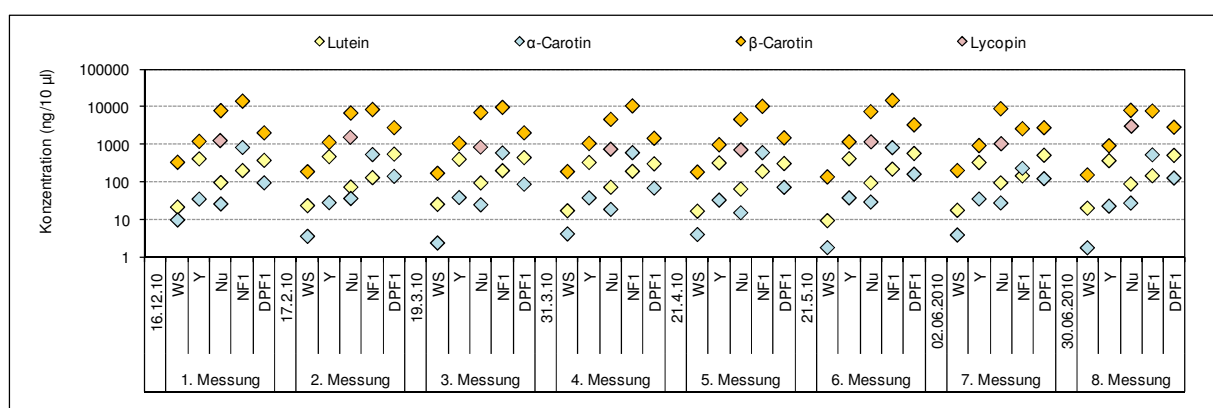


Abbildung 4-1-1: Carotinoidkonzentrationen von fünf verschiedenfarbigen Möhren während einer Tiefkühlagerung bei -68 °C über einen Zeitraum von sechs Monaten

Wie der Abbildung 4-1-2 zu entnehmen ist, ist demgegenüber bei den Polyacetylenkonzentrationen ein deutlicher Abbau zu beobachten. Hier ist zu erkennen, dass schon nach drei Monaten die Polyacetylenkonzentrationen in allen fünf untersuchten Genotypen deutlich abnehmen. Zwar scheinen sich die Konzentrationen im darauffolgenden Monat wieder zu stabilisieren, jedoch ist von da an ein deutlicher Trend zum Abbau zu beobachten.

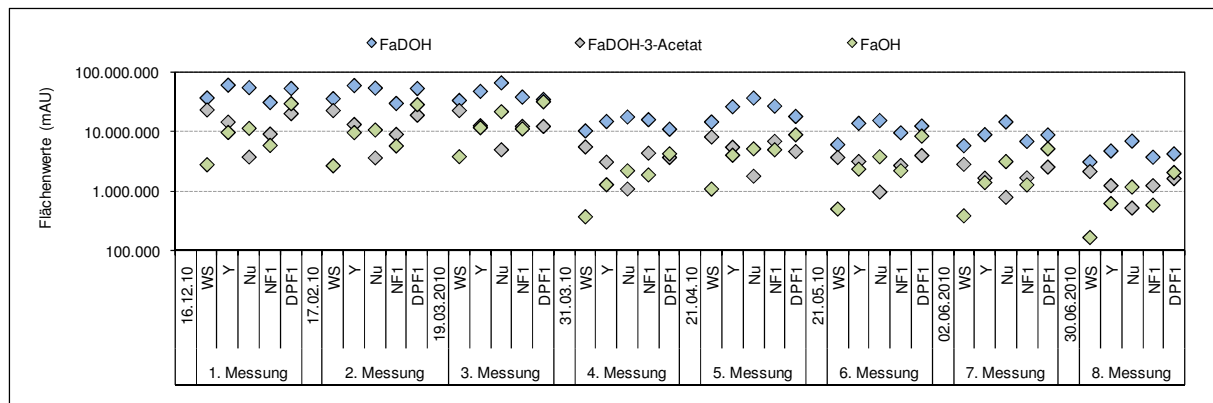


Abbildung 4-1-2: Polyacetylenkonzentrationen von fünf verschiedenfarbigen Möhren während einer Tiefkühlagerung bei -68 °C über einen Zeitraum von sechs Monaten

#### 4.1.2 Ermittlung der tatsächlichen Extraktionsausbeute der ASE bei Carotinoiden und Polyacetylenen

Wie schon unter Punkt 3.4.3 angesprochen, wurde zur Ermittlung der maximalen Extraktionsausbeute von Carotinoiden und Polyacetylenen mittels der neu entwickelten ASE-Methode Extraktionsversuche durchgeführt. Diese sollten die maximal mögliche Extraktion von Carotinoiden und Polyacetylenen nach einem Extraktionsdurchlauf am Beispiel von zwei Kulturmöhrengenotypen und einem Wildmöhrengenotyp ermitteln. Es stellte sich heraus, dass eine vollständige Extraktion der Carotinoide nicht bei jedem der drei untersuchten Genotypen möglich war. Bei der Extraktion der Polyacetylene war dies für alle drei Genotypen möglich.

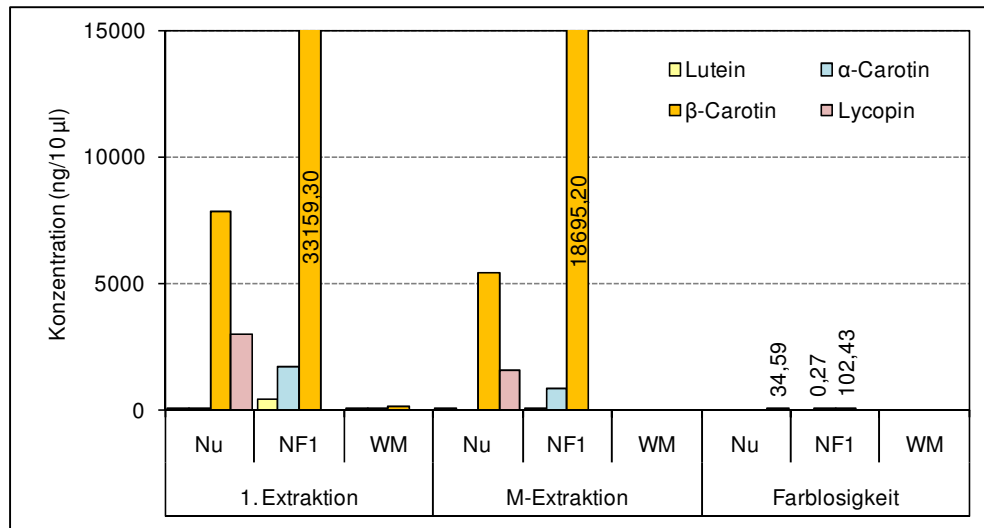


Abbildung 4-1-3: Extraktion bis zur vollständigen Herauslösung der vier Carotinoide Lutein, α-, β-Carotin und Lycopin mittels ASE bei den Sorten 'Nutrired' (Nu), 'Nerac F1' (NF1) sowie einem Wildmöhrengenotyp (WM)

Den Abbildungen 4-1-3 und 4-1-4 ist deutlich zu entnehmen, dass die Carotinoidkonzentrationen, welche nach den Erstextraktionen in den Kulturmöhren verbleiben, deutlich höher liegen als bei der Wildmöhre. Abhängig von der Kulturmöhrensorte schwankten die prozentualen Carotinoidrestgehalte nach der ersten Extraktion deutlich, während bei dem untersuchten Wildmöhrengenotyp alle Carotinoide bis unter die Nachweisgrenze aus der Karottenmatrix herausgelöst werden konnten.

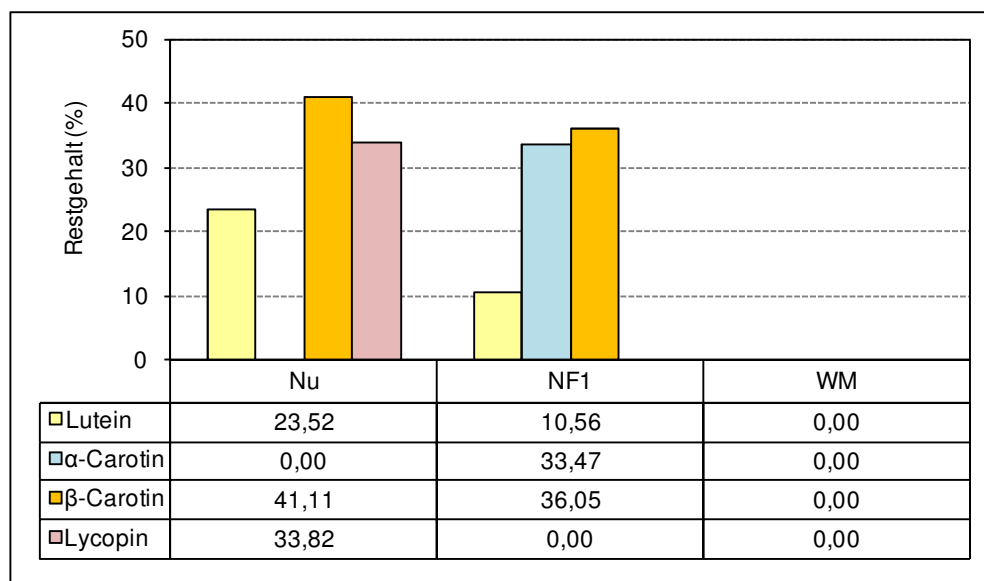


Abbildung 4-1-4: Prozentuale Carotinoidrestgehalte, welche nach der ersten Extraktion noch im Probenmaterial verbleiben. Durchgeführt an den Sorten 'Nutrired' (Nu), 'Nerac F1' (NF1) sowie einem Wildmöhrengenotyp (WM) für die Carotinoide Lutein, α-Carotin, β-Carotin und Lycopin

Bis zur vollständigen Extraktion der drei Polyacetylene aus den beiden Kulturmöhrensor­ten 'Nutrired' und 'Nerac F1' sowie einem Wildmöhrengenotyp wurden zwar 46, 16 bzw. 24 Extraktionsdurchläufe mit der ASE benötigt, es konnten jedoch alle Polyacetylene vollständig bis zur Nachweisgrenze herausgelöst werden (Abbildungen 4-1-5 und 4-1-6). Basierend auf der ersten Extraktion und der aufkonzentrierten Mischprobe aller folgenden Extraktionen, in denen noch Gehalte an Polyacetylenen nachweisbar waren, konnte der prozentuale Rest an Polyacetylenen ermittelt werden, welcher nach der ersten Extraktion mit der ASE in der Probe verblieben war und erst in den folgenden Extraktionen aus der Karottenmatrix herausgelöst wurde. Daraus ergaben sich die in Abbildung 4-1-6 dargestellten prozentualen Restgehalte nach der ersten Extraktion für die drei Polyacetylene basierend auf den drei untersuchten Karottengenotypen.

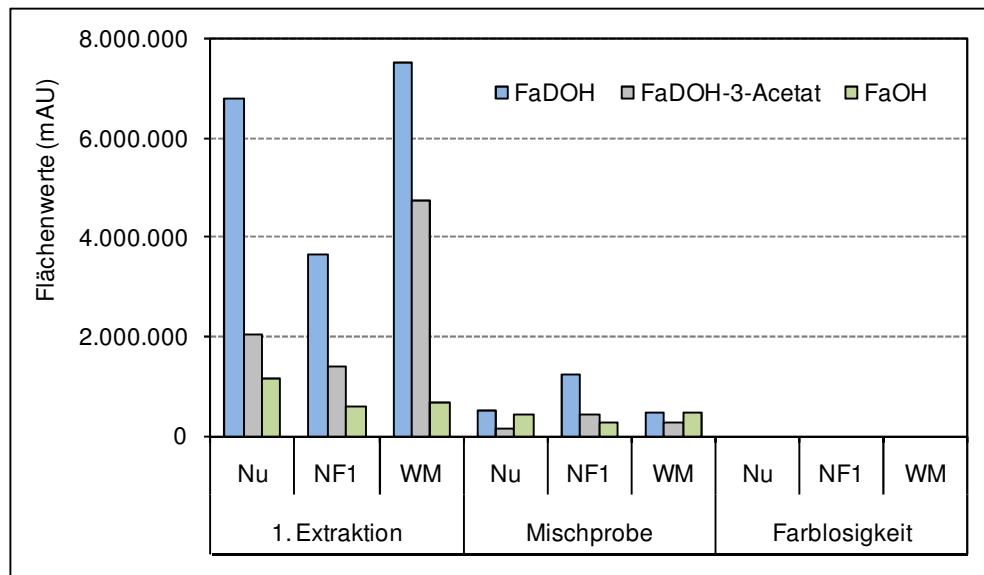


Abbildung 4-1-5: Extraktion bis zur vollständigen Herauslösung der drei Polyacetylene FaOH, FaDOH und FaDOH-3-Acetat mittels ASE bei den Sorten 'Nutrired' (Nu), 'Nerac F1' (NF1) sowie einem Wildmöhrengenotyp (WM)

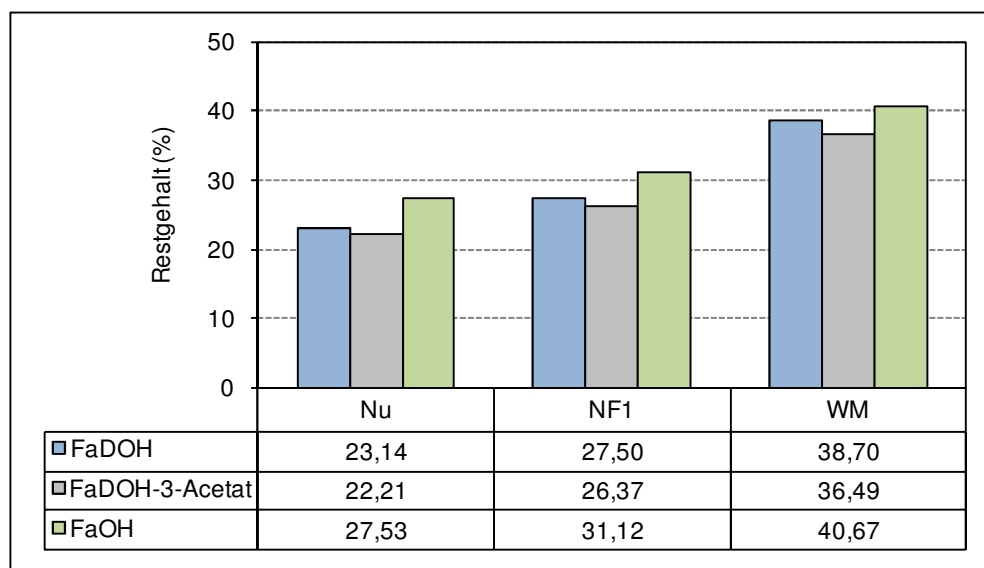


Abbildung 4-1-6: Prozentuale Polyacetylenrestgehalte, welche nach der ersten Extraktion noch im Probenmaterial verbleiben, durchgeführt an den Sorten 'Nutrired' (Nu), 'Nerac F1' (NF1) sowie einem Wildmöhrengenotyp (WM) für die Polyacetylene FaOH, FaDOH und FaDOH-3-Acetate

Der Abbildung 4-1-6 ist ferner zu entnehmen, dass die nach den Erstextraktionen verbleibenden Polyacetylenkonzentrationen bei der Wildmöhre deutlich höher liegen als bei den beiden Kulturmöhren. Die Werte für alle Restkonzentrationen liegen weit unter 50 % der Gesamtgehalte und bewegen sich in Bereichen zwischen 23,14 % bis 38,70 % für das FaDOH, 22,21 % bis 36,49 % für das FaDOH-3-Acetate und 27,53 % bis 40,67 % für FaOH.

#### 4.2 Ergebnisse des ersten Assoziationsversuchs mit 100 Kulturmöhrengenotypen

Wie unter Punkt 3.1.1 und 3.1.2 beschrieben, wurden in dem ersten Assoziationsversuch die Inhaltsstoffkonzentrationen der drei nicht-flüchtigen chemischen Gruppen Carotinoide, Polyacetylene und Zucker in 100 Genotypen Kulturmöhren bestimmt. Bei diesen Genotypen handelte es sich um 4 weiße, 12 gelbe, 7 rote, 10 violette und 66 orangene Kulturmöhren. In der Tabelle 4-2-1 ist das Inhaltsstoffspektrum der 100 Genotypen, bezogen auf die neun Zielsubstanzen, aufgeführt.

Auffällig ist, dass die Mittelwerte von Lutein und  $\alpha$ -Carotin mit 0,40 und 0,84 mg/100 g FM recht gering sind, wohingegen der durchschnittliche  $\beta$ -Carotingehalt mit 9,49 mg/100 g FM hoch ist. Signifikant ist außerdem die relativ große Standardabweichung für Lutein von 0,54 mg/100 g FM, die, würde sie vom Mittelwert abgezogen werden, zu negativen Luteingehalten führen würde. Allerdings ist dies ein rechnerisches Phänomen, da sich die Standardabweichung auf die gesamte Bandbreite der Konzentrationen bezieht und daher negative Luteinwerte nicht möglich sind. Wie bei Kulturmöhren nicht anders zu erwarten,

sind die Zuckergehalte relativ hoch. Mit einer errechneten durchschnittlichen Konzentration von ca. 2,16 mg/100 g FM liegen sie jedoch deutlich unter den in der Literatur für durchschnittliche Kulturmöhren angegebenen Werten von 4,8 mg/100 g FM [Souci et al., 2000].

Bedeutsam sind bei den Polyacetylengehalten vor allem die hohen Durchschnittskonzentrationen des FaDOHs und des FaOHs von 10,36 und 3,09 mg/100 g FM. Sie lagen damit höher als die durchschnittlichen Carotinoidwerte. Die Maximalkonzentrationen aller drei Polyacetylene in Kulturmöhren erwiesen sich als auffällig hoch. Sie lagen für das FaDOH bei 42,39 mg/100 g FM, für FaDOH-3-Acetat bei 14,93 mg/100 g FM und beim FaOH bei 28,11 mg/100 g FM. Bemerkenswert ist der Umstand, dass kein untersuchter Genotyp der Kulturmöhren frei von Polyacetylenen war. Die Polyacetylenkonzentrationen des Falcarinol-Typs wurden sämtlich mit größer als null gemessen.

Wie beim Lutein überschreitet auch beim FaDOH-3-Acetat und beim FaOH die Standardabweichung den rechnerischen Mittelwert.

Tabelle 4-2-1: Inhaltsstoffspektrum mit Maxima, Minima, Mittelwerten, Standardabweichungen sowie der Anzahl der gültigen Stichproben von 100 Kulturmöhrengenotypen in mg/100 g FM

Inhaltsstoffe (n = 100)	Minimum	Maximum	MW	Stabw
Lutein	0,00	2,93	0,40	0,54
$\alpha$ -Carotin	0,00	3,66	0,84	0,81
$\beta$ -Carotin	0,28	45,24	9,49	8,09
Fructose	11,64	992,98	397,90	239,30
Glucose	20,67	1645,66	572,00	347,08
Saccharose	286,03	2416,40	1190,69	438,92
FaDOH	0,82	42,40	10,36	7,94
FaDOH-3-Acetat	0,16	14,93	1,58	2,04
FaOH	0,08	28,11	3,09	4,32

#### 4.2.1 Verteilung der Carotinoide in 100 Kulturmöhrengenotypen

In den Abbildungen 4-2-1 bis 4-2-3 sind die Histogramme der drei Zielcarotinoide des ersten Assoziationsversuchs dargestellt. Aus ihnen werden die Verteilungsmuster, bezogen auf den jeweiligen Inhaltsstoff in 100 Kulturmöhren, ersichtlich. In roter Farbe ist die errechnete Gaußsche Glockenkurve der Normalverteilung hinterlegt. Allen drei Verteilungskurven

gemeinsam ist, dass die Anzahl der Genotypen mit geringen Konzentrationen groß ist und sie sich mit der Zunahme der Konzentrationen in unterschiedlichen Sprüngen verringert. Aus Gründen der grafischen Darstellung sind in allen folgenden Histogrammen z. T. die Nullwerte dem negativen Bereich zugeordnet.

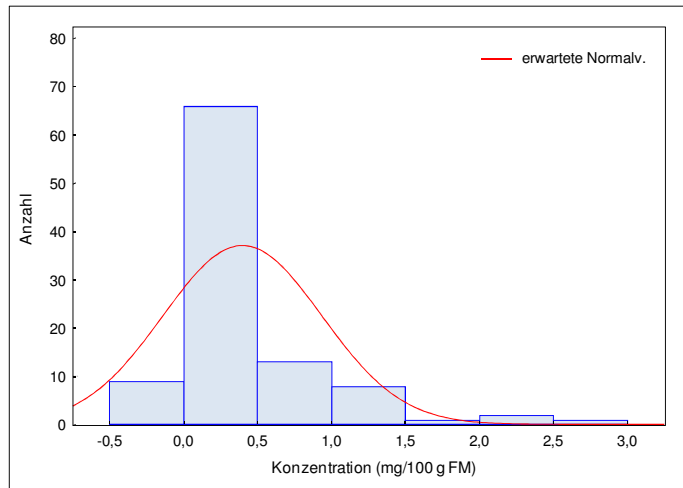


Abbildung 4-2-1: Histogramm der Luteinverteilungen in 100 Kulturmöhrengenotypen des ersten Assoziationsversuchs

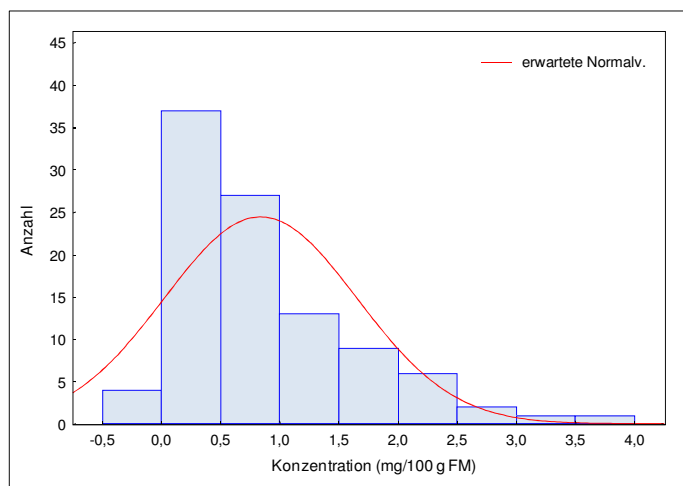


Abbildung 4-2-2: Histogramm der α-Carotinverteilungen in 100 Kulturmöhrengenotypen des ersten Assoziationsversuchs

Wie in der Abbildung 4-2-1 dargestellt, weisen die meisten Genotypen sehr geringe Konzentrationen bis 0,5 mg/100 g FM auf (ca. 65 Genotypen). Bei nur 13 Genotypen wurden Luteinkonzentrationen zwischen 0,5 und 1 mg/100 g FM gemessen. Die Zahl der Genotypen mit höheren Konzentrationen nimmt von dort an relativ kontinuierlich ab.



Das Verteilungsmuster der  $\alpha$ -Carotinkonzentrationen nähert sich der Normalverteilung mit dem Maximum zwischen ca. 0,5 und 1 mg/100 g FM, wobei die absolut höchste Anzahl zwischen 0 und 0,5 mg/100 g FM erreicht wird. Die Konzentrationen an  $\alpha$ -Carotin sind im Übrigen recht gleichmäßig über die Genotypen verteilt; nur im Bereich ab 1 mg/100 g FM ist ein leichter Bruch zu erkennen (Abbildung 4-2-2).

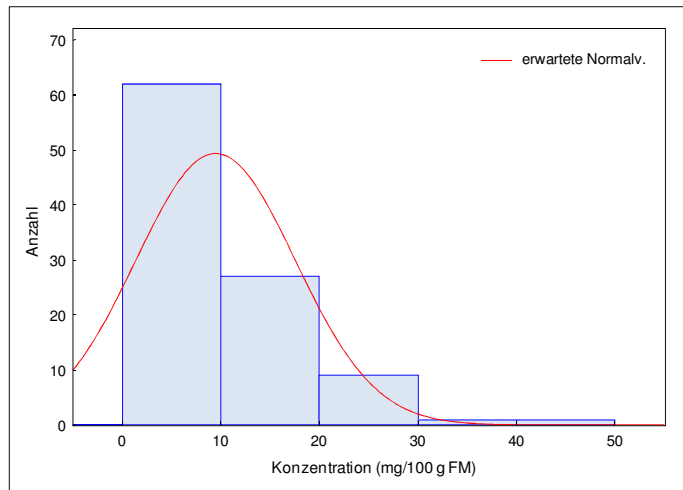


Abbildung 4-2-3: Histogramm der  $\beta$ -Carotinverteilungen in 100 Kulturmöhrengenotypen des ersten Assoziationsversuchs

Anhand der Verteilungskurve von  $\beta$ -Carotin in den Kulturmöhren ist eine Häufung bis 30 mg/100 g FM zu erkennen, über diesem Gehalt liegen nur 2 Genotypen (Abbildung 4-2-3). Die Verteilung der  $\beta$ -Carotin-Konzentration innerhalb des Kulturmöhrenpools weicht nur wenig von der Gaußschen Normalverteilung ab.

Ausgehend von dem erheblichen Umfang der Analytik von 100 Genotypen Kulturmöhren auf die nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe Carotinoide, Polyacetylene und Zucker mit jeweils drei „echten“ und zwei „maschinellen“ Wiederholungen war die Erzeugung übersichtlicher Daten notwendig. Hierfür wurde das Mittel der statistischen Verrechnung der Daten in Form einer PCA (Principal Component Analysis) gewählt.

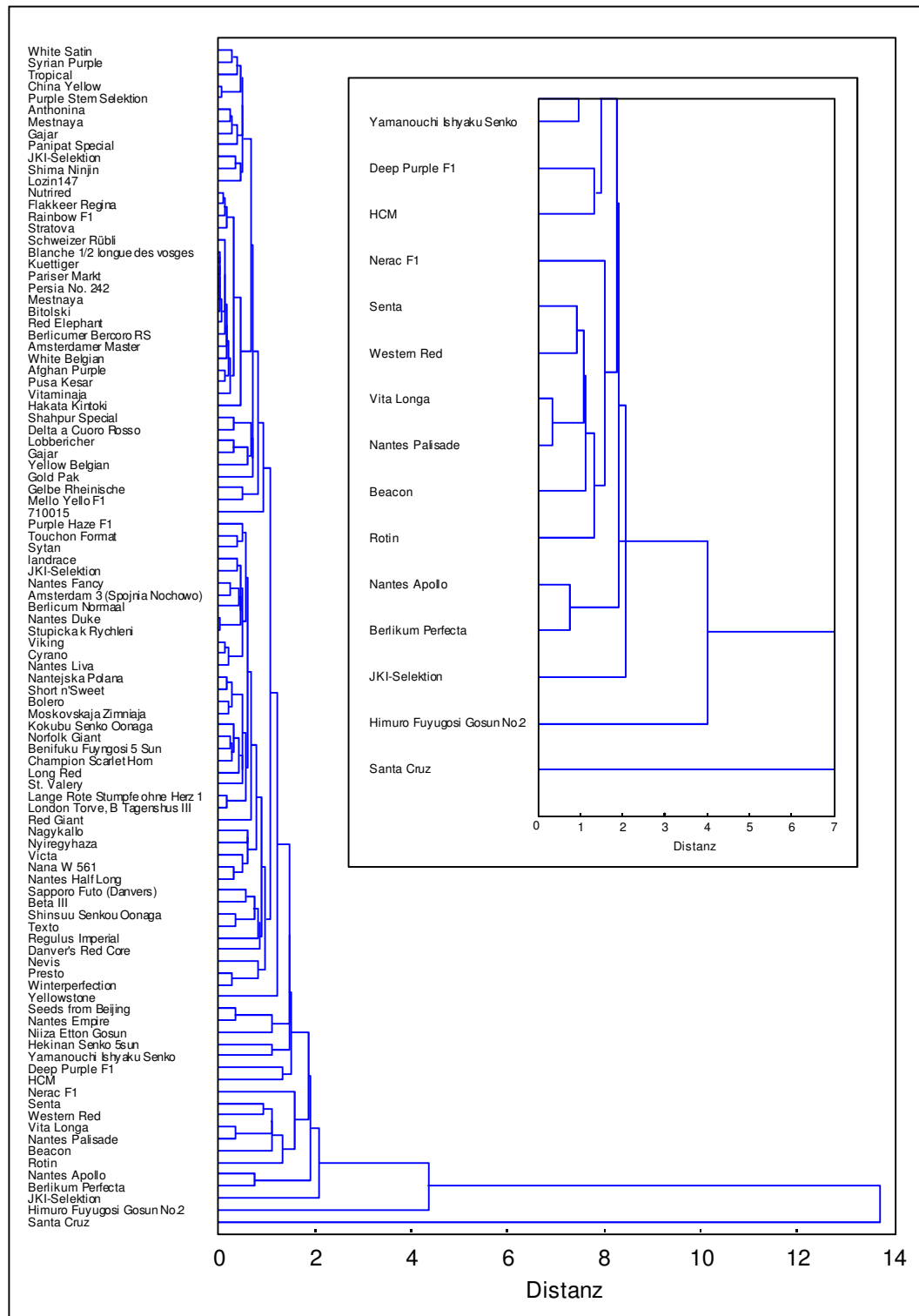


Abbildung 4-2-4: Dendrogramm der Zielcarotinoide in 100 Kulturmöhrengenotypen mit drei Wiederholungen je Genotyp

Hinsichtlich der Carotinoide fallen fünf Genotypen mit stark abweichenden Carotinoidkonzentrationen im Verhältnis zu den restlichen 95 Genotypen auf. Dem Dendrogramm, basierend auf einer Clusteranalyse, ist zu entnehmen, dass bei den Sorten 'Santa Cruz', 'Himuro Fuyugosi Gosun No.2', 'JKI-Selektion', 'Berlikum Perfecta' und

‘Nantes Apollo’ sämtlich signifikant erhöhte Carotinoidkonzentrationen gemessen wurden (Abbildung 4-2-4 und Tabelle 4-2-2). Die höchsten Carotinoidkonzentrationen hat die Sorte ‘Santa Cruz’ und ist damit auch der größte Ausreißer in der durchgeführten PCA. Bei dieser Sorte ist besonders der sehr hohe  $\beta$ -Carotingehalt von 45,24 mg/100 g FM zu beachten (Tabelle 4-2-2). Auch der  $\alpha$ -Carotingehalt ist mit 3,66 mg/100 g FM der absolute Höchstwert innerhalb des gesamten Versuchsfeldes. Der Genotyp ‘Himuro Fuyugosi Gosum No.2’ ist mit 31,53 mg/100 g FM bei der  $\beta$ -Carotin-Konzentration und 2,92 mg/100 g FM bei der  $\alpha$ -Carotinkonzentration auf dem zweiten Platz, gefolgt von den Genotypen JKI-Selektion, Berlikum Perfecta und Nantes Apollo. Wie ebenfalls der Tabelle 4-2-2 zu entnehmen ist, sind die beiden Ausreißer mit den höchsten Carotinoidkonzentrationen orangene Karotten, während auf dem dritten Platz eine violette Karotte, wiederum gefolgt von zwei orangenen Karotten, erscheint. Bei diesem Genotyp handelt es sich um eine JKI-eigene Züchtung, welche nur mit dem Namen JKI-Selection beschrieben wird. Sie ist besonders durch ihren hohen Luteingehalt auffällig, welcher mit 2,93 mg/100 g FM den höchsten Luteingehalt im gesamten untersuchten Kulturmöhrensortiment stellt.

Tabelle 4-2-2: Fünf Carotinoid-Ausreißer, basierend, auf einer PCA, durchgeführt mit 100 Kulturmöhrengenotypen mit drei Wiederholungen je Genotyp in mg/100 g FM

Nr.	Genotyp (n = 100)	Farbe	Lutein	Stabw	$\alpha$ -Carotin	Stabw	$\beta$ -Carotin	Stabw
05	Santa Cruz	orange	0,66	± 0,18	3,66	± 0,57	45,24	± 8,43
19	Himuro Fuyugosi Gosum No.2	orange	0,34	± 0,20	2,92	± 0,91	31,53	± 13,40
39	JKI-Selektion	violett	2,93	± 0,93	0,50	± 0,47	9,94	± 5,86
98	Berlikum Perfecta	orange	0,30	± 0,08	1,48	± 0,42	26,87	± 6,27
26	Nantes Apollo	orange	0,41	± 0,11	2,13	± 1,35	27,26	± 8,58

Konzentrationen an  $\beta$ -Carotin dieser fünf Ausreißer von maximal 45 mg/100 g FM übersteigen deutlich die in der Literatur beschriebenen durchschnittlichen  $\beta$ -Carotinkonzentrationen von 7,6 mg/100 g FM [Souci et al., 2000].

Die Standardabweichungen sind zum Teil recht hoch. So schwankt der  $\beta$ -Carotingehalt des stärksten Ausreißers ‘Santa Cruz’ z. B. um 8,43 mg/100 g FM; dies entspricht einer prozentualen Standardabweichung von 18,63 Prozent. Ähnlich verhält es sich mit der Standardabweichung des  $\beta$ -Carotingehalts von ‘Himuro Fuyugosi Gosum No.2’. Bei diesem Genotyp ist sogar eine prozentuale Standardabweichung von 42,49 % festzustellen.

#### 4.2.2 Verteilung der Polyacetylene in 100 Genotypen Kulturmöhren

Wie bei der Auswertung der Carotinoidergebnisse wurden auch für die Polyacetylengehalte in den 100 Genotypen Kulturmöhren Histogramme erstellt. In den Abbildungen 4-2-5 bis 4-2-7 sind diese für die Polyacetylene FaOH, FaDOH und FaDOH-3-Acetat aufgeführt.

Dem Histogramm für die Verteilung des FaOH ist zu entnehmen, dass die FaOH-Konzentrationen von etwa 85 % der untersuchten Genotypen in dem Bereich zwischen 0,07 und 5 mg/100 g FM liegen. Die restlichen 15 % der Genotypen verteilen sich auf Konzentrationen von bis zu 20 mg/100 g FM. Zwischen 20 und 25 mg/100 g FM ist kein Genotyp mit dieser Konzentration zu finden, während bei einem Genotyp über 25 mg/100 g FM gemessen wurde (Abbildung 4-2-5).

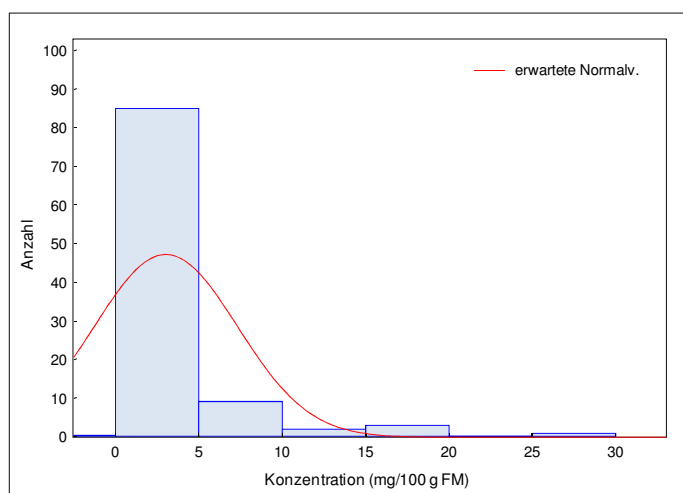


Abbildung 4-2-5: Histogramm der FaOH-Konzentration in 100 Kulturmöhrengenotypen des ersten Assoziationsversuchs

Bei den FaDOH-Konzentrationen sieht die Verteilung deutlich anders aus. Hierbei sind zwar auch recht viele Genotypen in dem Konzentrationsbereich bis 5 mg/100 g FM anzutreffen; dies betrifft aber nur ca. 33 Genotypen. Die weiteren schlüsseln sich in einer abfallenden Kaskade bis zu einer Konzentration von 35 mg/100 g FM auf. In dem Konzentrationsbereich zwischen 35 und 40 mg/100 g FM ist kein Genotyp zu finden, während für einen Genotyp eine Konzentration von über 40 mg/100 g FM ermittelt wurde. Die Verteilung der FaDOH-Konzentrationen liegt damit im Vergleich zum FaOH deutlich näher an der Normalverteilung (Abbildung 4-2-6).

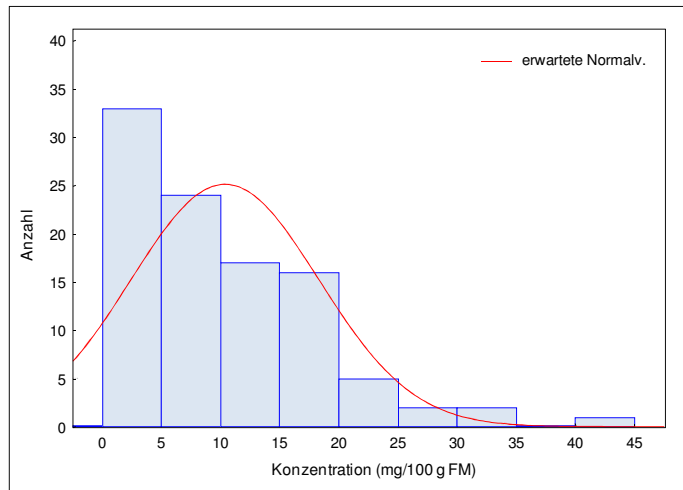


Abbildung 4-2-6: Histogramm der FaDOH-Konzentration in 100 Kulturmöhrengenotypen des ersten Assoziationsversuchs

Aus dem Histogramm für das FaDOH-3-Acetat ist eine sehr ähnliche Verteilung der Konzentrationen abzulesen wie bei dem FaOH. Auch hier ist eine deutliche Häufung der Genotypen im niedrigen Konzentrationsbereich zu erkennen. Die Konzentrationen liegen mit bis zu 2 mg/100 g FM jedoch beim FaDOH-3-Acetat deutlich niedriger als beim FaOH. Ab dieser Konzentration nimmt die Häufung der Genotypen deutlich ab. Im Bereich von 10 bis 14 mg/100 g FM sind keine Genotypen im untersuchten Pool zu finden, während bei einem Genotyp FaDOH-3-Acetat im Bereich zwischen 14 und 16 mg/100 g FM anzutreffen ist. Auch in dem Histogramm des FaDOH-3-Acetats ist die größte Anzahl der Genotypen im Bereich der niedrigen Konzentrationen anzutreffen, allerdings auch ein Ausreißer in den „höheren“ Konzentrationsbereichen (Abbildung 4-2-7).

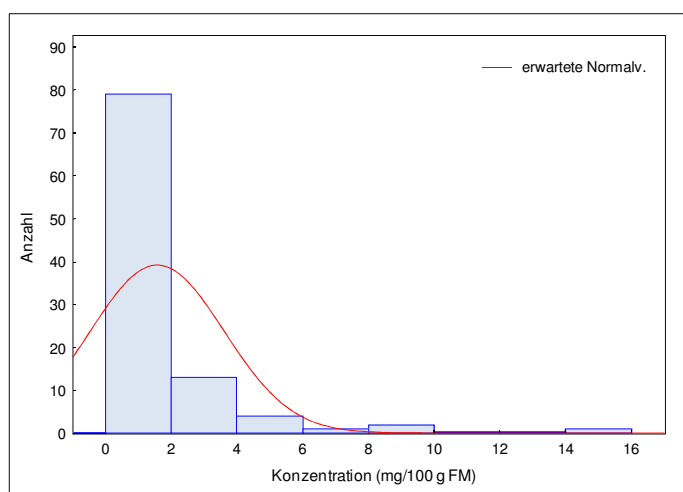


Abbildung 4-2-7: Histogramm der FaDOH-3-Acetat-Konzentration in 100 Kulturmöhrengenotypen des ersten Assoziationsversuchs

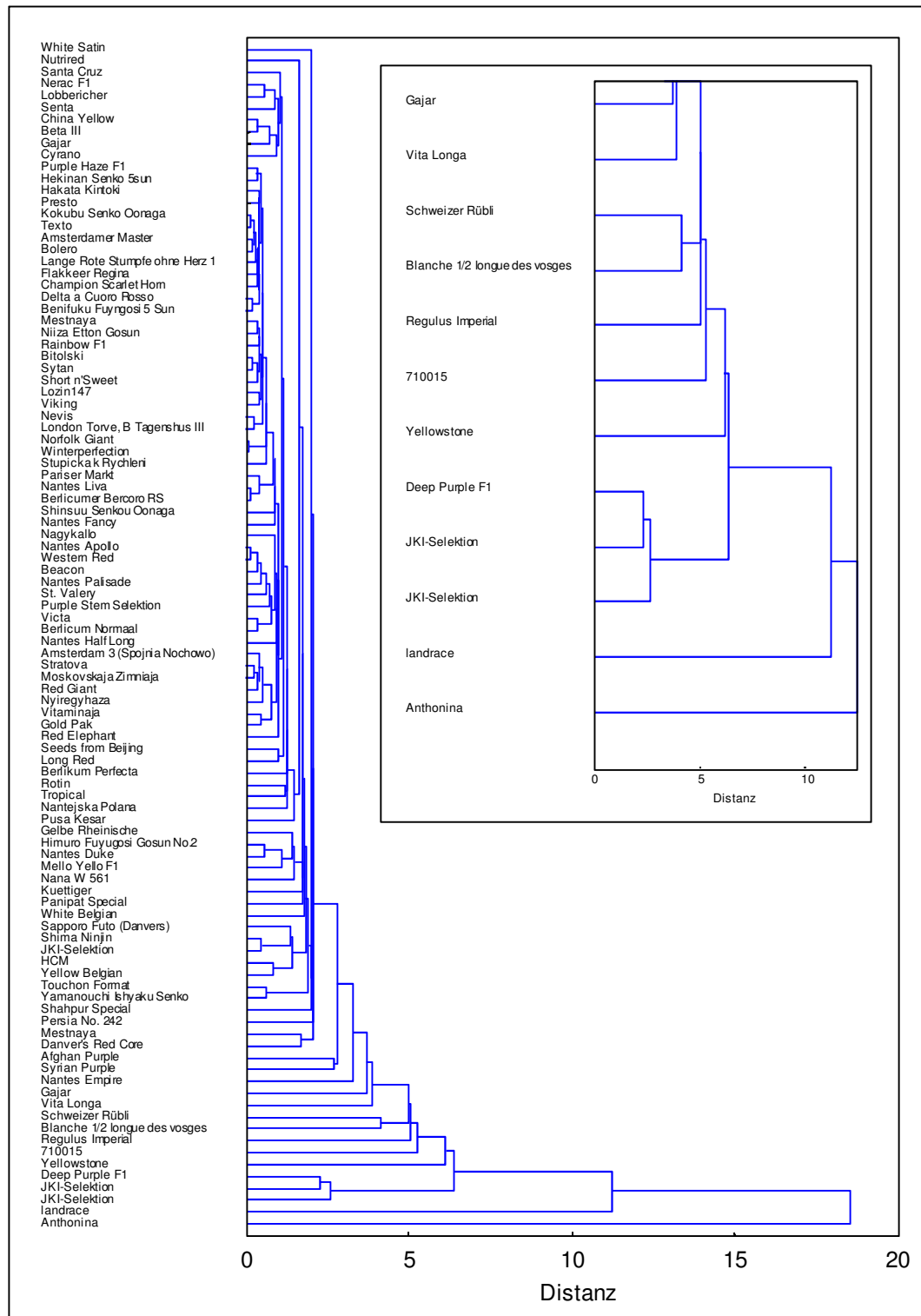


Abbildung 4-2-8: Dendrogramm der drei Polyacetylene FaOH, FaDOH und FaDOH-3-Acetat in 100 Kulturmöhrengentypen mit drei Wiederholungen je Genotyp

Aus dem Dendrogramm der statistischen Verrechnung der Polyacetylenkonzentrationen in 100 Kulturmöhrengentypen kann entnommen werden, dass acht Genotypen deutlich abweichende Polyacetylenkonzentrationen im Verhältnis zu den übrigen 92 Genotypen aufweisen (Abbildung 4-2-8). Bei den acht Genotypen handelt es sich um die Sorten

‘Anthonina’, ‘Landrace’, ‘JKI-Selektion’, ‘JKI-Selektion’, ‘Deep-Purple’, ‘Yellowstone’, ‘710015’ und ‘Regulus Imperia’. Die beiden Sorten JKI-Selektion sind trotz der Namensgleichheit zwei verschiedene Genotypen.

Der Tabelle 4-2-3 ist zu entnehmen, dass besonders der FaDOH- und FaOH-Gehalt der Genotypen einen großen Einfluss auf die Lage im Cluster haben. So hat die Sorte ‘Anthonina’ mit einem Gehalt von 42,40 mg/100 g FM nahezu die gleiche Konzentration an FaDOH aufzuweisen wie die Sorte ‘Santa Cruz’ an  $\beta$ -Carotin. Hinzu kommt ein FaOH-Gehalt von 28,11 mg/100 g FM bei der Sorte ‘Anthonina’, der ebenfalls sehr hoch ist. Ebenfalls aus der Abbildung 4-2-8 geht hervor, dass es neben den sechs Ausreißern mit deutlich erhöhten Polyacetylgehalten zwei extreme Ausreißer, die Sorten ‘Anthonina’ und ‘Landrace’, gibt, welche mit ihren sehr hohen Polyacetylgehalten sich sehr deutlich von den übrigen Genotypen absetzen. Werden die Farben der acht Genotypen in der Tabelle 4-2-3 betrachtet, so fällt auf, dass anscheinend der Polyacetylgehalt nicht von der Farbe der Wurzeln abhängig ist, da drei der insgesamt fünf verschiedenen Farben unter diesen Ausreißern vertreten sind. Außerdem ist bemerkenswert, dass die Sorte ‘Anthonina’, bei welcher der höchste Polyacetylgehalt gemessen wurde, eine violette Farbe hat und nicht, wie allgemein angenommen, eine weiße Karottensorte den höchsten Polyacetylgehalt aufweist. Dasselbe gilt für die weiteren Genotypen der Gruppe, welche orange, gelb oder violett, allerdings nicht weiß sind. Wird ein genauer Blick auf die Streuungen bei den acht Ausreißern geworfen, so ist eine nicht unerhebliche Streuung bei den drei Einzelpflanzen pro Genotyp zu erkennen. Die Polyacetylgehalte des polyacetylenreichsten Genotyps ‘Anthonina’ schwanken innerhalb der Sorte z. B. beim FaDOH um 10,77 mg/100 g FM, was einer prozentualen Standardabweichung von 25,40 % entspricht.

Tabelle 4-2-3: Acht Polyacetylen-Ausreißer, basierend auf einer PCA, durchgeführt mit 100 Kulturmöhrengenotypen mit drei Wiederholungen je Genotyp in mg/100 g FM

Nr.	Genotyp n=100	Farbe	FaDOH	Stabw	FaDOH-3-Acetat	Stabw	FaOH	Stabw
09	Anthonina	violett	42,40	± 10,77	14,93	± 3,09	28,11	± 18,47
14	Landrace	orange	32,31	± 3,33	3,32	± 1,45	17,73	± 6,44
25	JKI-Selektion	violett	14,89	± 2,02	1,23	± 0,54	14,91	± 3,05
39	JKI-Selektion	violett	18,79	± 4,31	1,40	± 1,15	16,30	± 3,54
07	Deep Purple F1	violett	16,79	± 4,91	2,47	± 0,93	16,20	± 4,97
02	Yellowstone	gelb	34,85	± 10,53	6,81	± 6,23	6,17	± 1,35
03	710015	gelb	29,36	± 10,57	4,17	± 3,49	6,94	± 1,47
100	Regulus Imperial	orange	27,64	± 19,08	5,10	± 2,69	2,05	± 2,08

### 4.2.3 Verrechnung der Carotinoid- und Polyacetylengehalte innerhalb des ersten Assoziationsversuchs

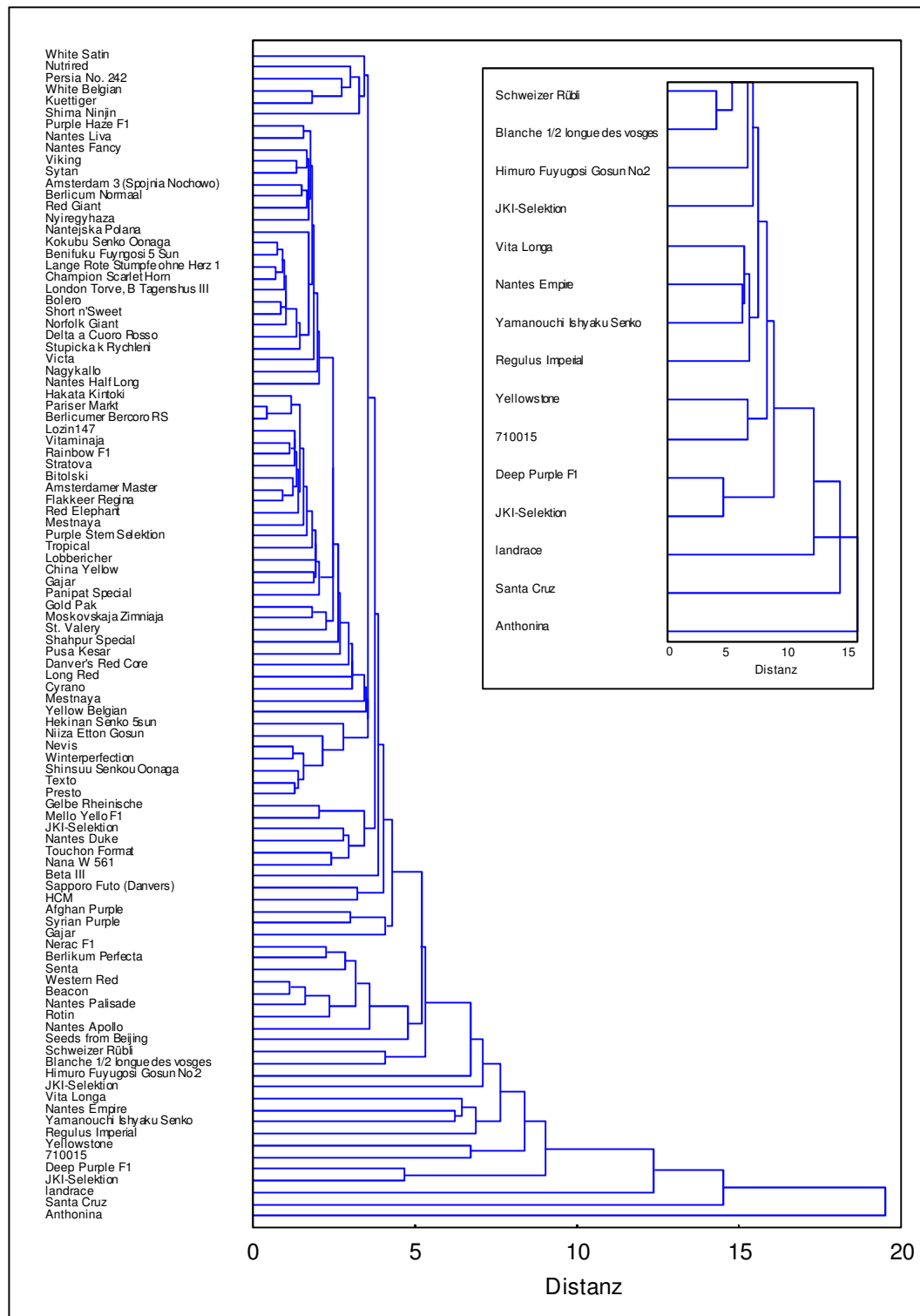


Abbildung 4-2-9: Dendrogramm der statistischen Verrechnung von Carotinoiden und Polyacetylenen von 100 Kulturmöhrengenotypen mit drei Wiederholungen je Genotyp



In der Tabelle A-7-2 im Anhang sind die 100 Genotypen Kulturmöhren mit ihren jeweiligen Carotinoid- und Polyacetylenkonzentrationen aufgeführt. Dem Dendrogramm der Verrechnung der Carotinoid- und Polyacetylendaten innerhalb des ersten Assoziationsversuchs ist zu entnehmen, dass es eine sehr große Gruppe (85 Genotypen) mit recht homogenen Carotinoid- und Polyacetylenmustern gibt, während sich 15 Genotypen absetzen (Abbildung 4-2-9). Dies geschieht zu Beginn weniger deutlich, bei drei Genotypen aber sehr stark. Bei den Letzteren handelt es sich um die Genotypen 'Landrace', 'Santa Cruz' und 'Anthonina'. Wie schon bei der Verrechnung der Polyacetylenkonzentrationen auffiel, stechen auch hier die beiden Genotypen 'Landrace' und 'Anthonina' als die Genotypen ins Auge, welche sich am weitesten von den übrigen Genotypen unterscheiden. 'Santa Cruz' ist der Genotyp, welcher sich bei der statistischen Verrechnung der Carotinoidkonzentrationen innerhalb des ersten Assoziationsversuchs am stärksten von den übrigen Genotypen unterscheidet. In der Tabelle 4-2-4 ist deutlich zu erkennen, dass die Genotypen, welche auch bei der Einzelverrechnung der Carotinoid- und Polyacetylengehalte die stärksten Ausreißer waren, ebenso in der Gesamtverrechnung die stärksten Ausreißer stellen. Des Weiteren wird deutlich, dass bei diesem Verrechnungsergebnis beide chemischen Gruppen einen großen Einfluss bei der Verrechnung der Datensätze haben. Wie schon zuvor beschrieben sind die zum Teil großen Standardabweichungen innerhalb der Genotypen auffällig, was deutlich zeigt, dass die Schwankungen der Konzentrationen der Inhaltsstoffe innerhalb des Genotyps z. T. deutlich größer sind als die Unterschiede in den Konzentrationen zwischen den einzelnen Genotypen.

Tabelle 4-2-4: Fünfzehn Ausreißer, basierend, auf einer PCA, durchgeführt mit 100 Kulturmöhrengenotypen mit drei Wiederholungen je Genotyp anhand der Polyacetylen- und Carotinoidkonzentrationen in mg/100 g FM

Nr.	Genotyp (n = 100)	Farbe	FaDOH	Stabw	FaDOH-3-Acetat	Stabw	FaOH	Stabw	Lutein	Stabw	$\alpha$ -Carotin	Stabw	$\beta$ -Carotin	Stabw
09	Anthonina	violett	42,40	± 10,77	14,93	± 3,09	28,11	± 18,47	0,77	± 0,18	0,00	± 0,00	3,24	± 2,81
05	Santa Cruz	orange	11,65	± 7,08	1,29	± 0,83	3,08	± 3,37	0,66	± 0,18	3,66	± 0,57	45,24	± 8,43
14	Landrace	orange	32,31	± 3,33	3,32	± 1,45	17,73	± 6,44	0,73	± 0,12	0,68	± 0,52	9,24	± 5,64
39	JKI-Selektion	violett	18,79	± 4,31	1,40	± 1,15	16,30	± 3,54	2,93	± 0,93	0,50	± 0,47	9,94	± 5,86
07	Deep Purple F1	violett	16,79	± 4,91	2,47	± 0,93	16,20	± 4,97	1,88	± 0,51	0,83	± 1,17	13,89	± 11,26
03	710015	gelb	29,36	± 10,57	4,17	± 3,49	6,94	± 1,47	1,43	± 0,04	0,04	± 0,08	4,11	± 0,85
02	Yellowstone	gelb	34,85	± 10,53	6,81	± 6,23	6,17	± 1,35	2,06	± 0,44	0,32	± 0,10	6,82	± 1,22
100	Regulus Imperial	orange	27,64	± 19,08	5,10	± 2,69	2,05	± 2,08	0,30	± 0,25	1,41	± 1,80	13,29	± 13,02
94	Yamanouchi Ishyaku Senko	orange	17,90	± 16,48	2,68	± 1,69	2,96	± 0,98	0,76	± 0,49	1,64	± 0,19	19,91	± 0,95
57	Nantes Empire	orange	23,49	± 16,40	3,71	± 2,14	4,56	± 0,59	0,03	± 0,04	1,75	± 1,40	17,98	± 5,81
56	Vita Longa	orange	22,96	± 11,41	2,20	± 1,46	1,04	± 0,29	0,01	± 0,02	2,14	± 0,60	23,30	± 8,07
40	JKI-Selektion	violett	15,47	± 4,49	0,87	± 0,36	3,70	± 1,54	1,06	± 0,50	0,63	± 0,10	9,06	± 1,45
19	Himuro Fuyugosi Gosun No.2	orange	16,00	± 4,89	2,22	± 0,59	1,69	± 0,69	0,34	± 0,20	2,92	± 0,91	31,53	± 13,40
11	Blanche 1/2 longue des vosges	weiß	20,04	± 6,32	8,15	± 4,31	6,18	± 3,36	0,00	± 0,00	0,02	± 0,00	0,90	± 0,12
10	Schweizer Rübli	weiß	21,44	± 6,50	8,65	± 2,17	2,33	± 0,65	0,03	± 0,05	0,01	± 0,01	1,05	± 0,34

#### 4.2.4 Korrelation zwischen flüchtigen Inhaltsstoffen in Karottenblättern und nicht-flüchtigen Inhaltsstoffen in den Karottenwurzeln bei 100 Kulturmöhrengentypen

Der Tabelle A-7-5 im Anhang ist zu entnehmen, dass die Aromamuster der Karottenblätter aus dem ersten Assoziationsversuch (Kulturmöhren) eine große Variationsbreite aufzeigten. Von den 100 untersuchten Kulturmöhrengentypen wiesen 10 Genotypen ein besonders stark abweichendes Aromamuster auf. Die Analyse der Korrelation zwischen den flüchtigen Inhaltsstoffen in den Karottenblättern und den nicht-flüchtigen Inhaltsstoffen in den jeweiligen Karottenwurzeln der 100 Kulturmöhrengentypen zeigte, wie der Tabelle A-7-1 im Anhang zu entnehmen ist, keine Korrelation auf. Eine weitere Betrachtung der flüchtigen Inhaltsstoffe innerhalb des ersten Assoziationsversuches erwies sich somit als nicht zielführend.

#### 4.2.5 Verteilung der Zucker in 99 Kulturmöhrengentypen

Bei der Analyse der Zuckerkonzentrationen in Kulturmöhren entfiel ein Genotyp, da bei diesem nicht ausreichend Probenmaterial für die Zuckeranalyse vorhanden war.

In den Abbildungen 4-2-10 bis 4-2-12 sind die Verteilungskurven der drei Zucker in 99 Kulturmöhren des ersten Assoziationsversuchs dargestellt. Bei der Betrachtung des Histogramms für Glucose fällt besonders die leicht verschobene Normalverteilung auf. Die meisten Kulturmöhrengentypen haben, wie der Abbildung 4-2-10 zu entnehmen ist, recht hohe Konzentrationen an Glucose. Bemerkenswert ist die große Spannbreite der Konzentrationen an Glucose von 0 bis 1800 mg/100 g FM.

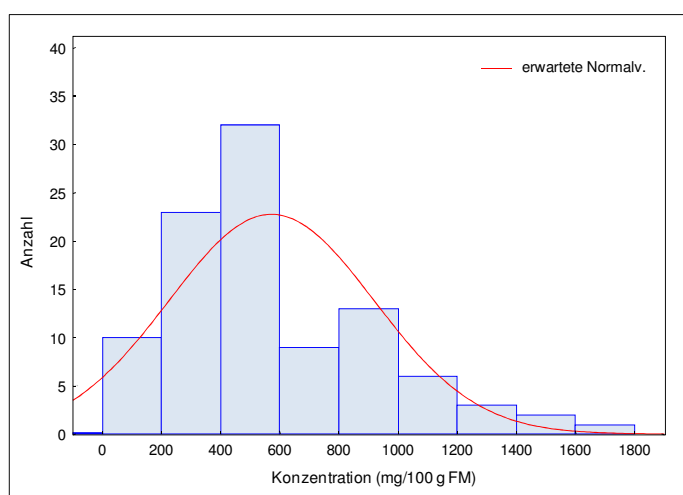


Abbildung 4-2-10: Histogramm der Glucosekonzentrationen in 100 Kulturmöhrengentypen des ersten Assoziationsversuchs

Aus der Abbildung 4-2-11, dem Histogramm der Fructosekonzentrationen in den untersuchten Kulturmöhren, ist ebenfalls eine leicht verschobene Gaußverteilung zu erkennen. Auffällig bei den Fructosekonzentrationen ist, dass die Konzentrationen mit 0 bis 1000 mg/100 g FM nur halb so stark streuen wie die der Glucosekonzentrationen. Auch in Bezug auf die Glucosekonzentrationen sind innerhalb der Kulturmöhren deutliche Schwankungen anzutreffen.

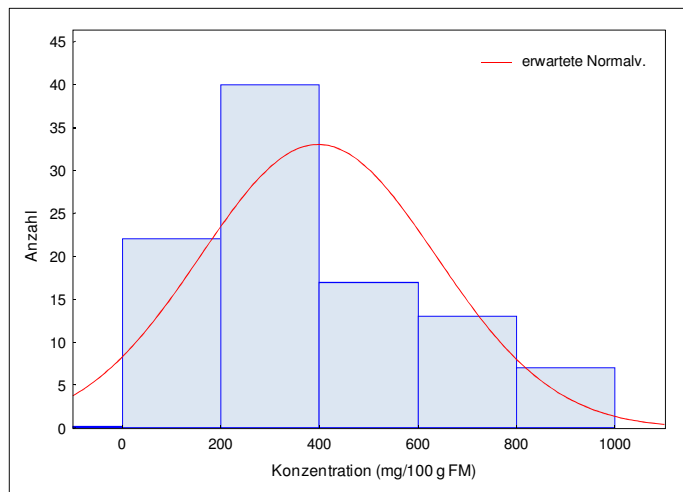


Abbildung 4-2-11: Histogramm der Fructosekonzentrationen in 100 Kulturmöhren genotypen des ersten Assoziationsversuchs

In der Abbildung 4-2-12 ist die Verteilung der Konzentrationen des Disaccharides Saccharose aufgeführt. Aus dieser ist eine nahezu symmetrische Gaußverteilung zu erkennen. Bemerkenswert ist außerdem das große Spektrum, in welchem sich die Saccharosekonzentrationen bewegen. Es liegt zwischen 0 und 2500 mg/100 g FM. Dies entspricht einer Maximalkonzentration der Saccharose von 2,5 g/100 g FM.

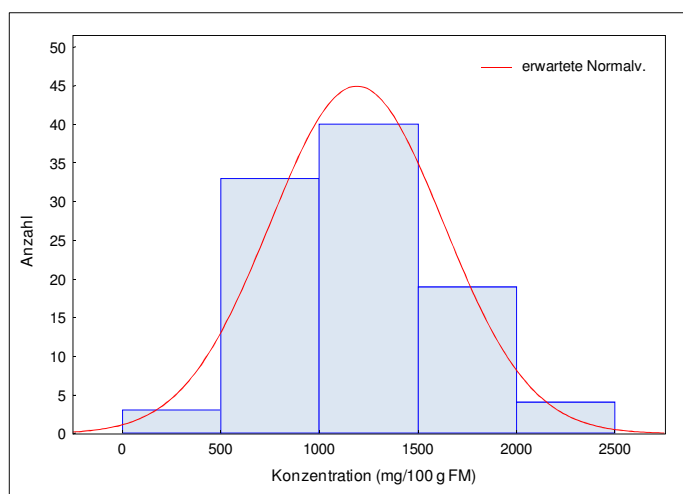


Abbildung 4-2-12: Histogramm der Saccharosekonzentrationen von 100 Kulturmöhren genotypen des ersten Assoziationsversuchs

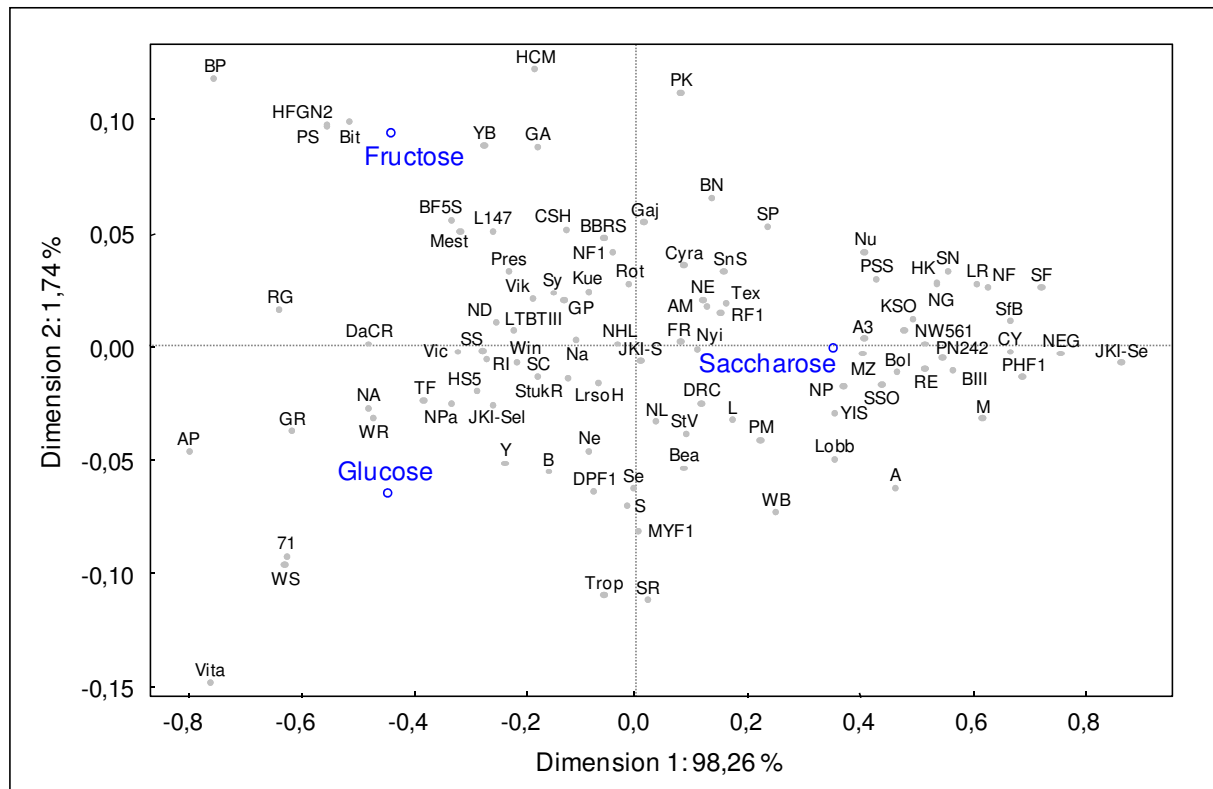


Abbildung 4-2-13: Korrespondenzanalyse der drei Hauptzucker Glucose, Fructose und Saccharose in 99 Kulturmöhrengenotypen

Die durchgeführte Korrespondenzanalyse macht deutlich, wie sich die Genotypen im zweidimensionalen Raum nach den Haupteinflussfaktoren orientieren. Bei der statistischen Verrechnung der Zuckerkonzentrationen in den Kulturmöhren zeigte sich, wie der Abbildung 4-2-13 zu entnehmen ist, dass zwar das Disaccharid Saccharose den größten Einfluss auf die Verteilung der Genotypen innerhalb der drei Zucker hat, sich jedoch die meisten Genotypen in der Mitte zwischen allen drei Zuckern finden.

#### 4.2.6 Überprüfung der Analysenergebnisse durch die Ergebnisse der statistischen Verrechnung

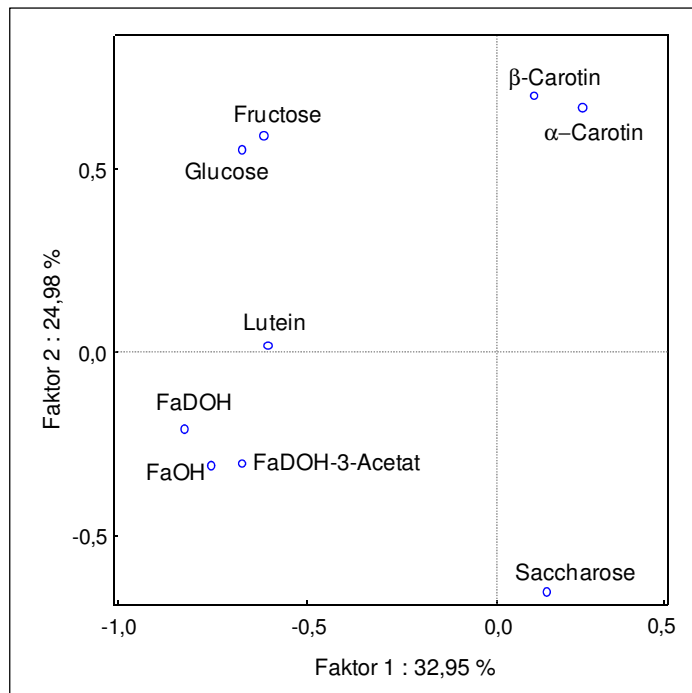


Abbildung 4-2-14: Hauptkomponentenanalyse von Carotinoiden, Polyacetylenen und Zuckern

Wie der Abbildung 4-2-14 zu entnehmen ist, konnten die ermittelten Analyseergebnisse aus dem Assoziationsversuch I durch das Mittel der statistischen Verrechnung bestätigt werden. Es ist eine logische Verteilung der Inhaltsstoffe nach ihren chemischen Gruppen zu erkennen. So liegen die beiden Carotine  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin sehr dicht beieinander, während das Zeaxanthin Lutein deutlich entfernt von beiden anzutreffen ist. Auch die beiden Monosaccharide Glucose und Fructose gruppieren sich dichter aneinander als zum Disaccharid Saccharose. Bei den Polyacetylenen liegen alle drei Polyacetylene sehr dicht beieinander.

Eine Gesamtverrechnung aller nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe mit den Mitteln der Statistik führte zu keinen Ergebnissen. Die Unterschiede zwischen den chemischen Gruppen der Carotinoide, Polyacetylene und Zucker sind zu groß, als dass sich eine logische oder überraschende Clustering der Genotypen ergibt. Aus diesem Grund wird diese Gesamtverrechnung hier nicht dargestellt.

#### 4.2.7 Ranking der höchsten Carotinoid-, Polyacetylen- und Zuckerkonzentrationen in den Kulturmöhren

In den folgenden Tabellen werden, für die untersuchten Inhaltsstoffe, die zehn Genotypen mit den jeweils höchsten Konzentrationen an Carotinoiden, Polyacetylenen und Zuckern gelistet. Die Listen dienen der Übersicht und lassen erkennen, dass neben hohen Carotinoidkonzentrationen auch sehr hohe Polyacetylenkonzentrationen in den 100 untersuchten Kulturmöhrengenotypen festgestellt werden konnten.

Tabelle 4-2-5: 10 Kulturmöhrensorten des ersten Assoziationsversuchs mit den jeweils höchsten Lutein-,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotinkonzentrationen in mg/100 g FM

Genotyp	Lutein	Stabw	Genotyp	$\alpha$ -Carotin	Stabw	Genotyp	$\beta$ -Carotin	Stabw
JKI-Selektion	2,93	± 0,93	Santa Cruz	3,66	± 0,57	Santa Cruz	45,24	± 8,43
HCM	2,46	± 2,15	Rotin	3,08	± 0,84	Himuro Fuyugosi Gosun No.2	31,53	± 13,40
Yellowstone	2,06	± 0,44	Himuro Fuyugosi Gosun No.2	2,92	± 0,91	Nantes Apollo	27,26	± 8,58
Deep Purple F1	1,88	± 0,51	Niiza Etton Gosun	2,82	± 2,32	Berlikum Perfecta	26,87	± 6,27
710015	1,43	± 0,04	Hekinan Senko 5sun	2,45	± 2,20	Nerac F1	25,01	± 7,09
Mello Yello F1	1,41	± 0,17	Beta III	2,31	± 2,01	Nantes Palisade	23,44	± 1,52
Beacon	1,33	± 1,76	Sapporo Futo (Danvers)	2,23	± 1,95	Vita Longa	23,30	± 8,07
Gelbe Rheinische	1,09	± 1,00	Western Red	2,20	± 0,26	Senta	22,30	± 18,55
JKI-Selektion	1,06	± 0,50	Vita Longa	2,14	± 0,60	Rotin	22,18	± 7,88
Shima Ninjin	1,03	± 0,36	Nantes Apollo	2,13	± 1,35	Western Red	22,12	± 1,07

Tabelle 4-2-6: 10 Kulturmöhrensorten des ersten Assoziationsversuchs mit den jeweils höchsten Polyacetylenkonzentrationen an FaDOH, FaDOH-3-Acetat und FaOH in mg/100 g FM

Genotyp	FaDOH	Stabw	Genotyp	FaDOH-3-Acetat	Stabw	Genotyp	FaOH	Stabw
Anthonina	42,40	± 10,77	Anthonina	14,93	± 3,09	Anthonina	28,11	± 18,47
Yellowstone	34,85	± 10,53	Schweizer Rübli	8,65	± 2,17	Landrace	17,73	± 6,44
Landrace	32,31	± 3,33	Blanche 1/2 longue des vosges	8,15	± 4,31	JKI-Selektion	16,30	± 3,54
710015	29,36	± 10,57	Yellowstone	6,81	± 6,23	Deep Purple F1	16,20	± 4,97
Regulus Imperial	27,64	± 19,08	Regulus Imperial	5,10	± 2,69	JKI-Selektion	14,91	± 3,05
Nantes Empire	23,49	± 16,40	White Satin	4,54	± 0,79	Gajar	10,03	± 4,69
Vita Longa	22,96	± 11,41	White Belgian	4,33	± 1,02	710015	6,94	± 1,47
Syrian Purple	21,54	± 5,19	710015	4,17	± 3,49	Afghan Purple	6,50	± 2,62
Schweizer Rübli	21,44	± 6,50	Nantes Empire	3,71	± 2,14	Syrian Purple	6,34	± 1,53
Blanche 1/2 longue des vosges	20,04	± 6,32	Persia No. 242	3,59	± 2,06	Blanche 1/2 longue des vosges	6,18	± 3,36

Tabelle 4-2-7: 10 Kulturmöhrensorten des ersten Assoziationsversuchs mit den jeweils höchsten Zuckerkonzentrationen an Glucose, Fructose und Saccharose in mg/100 g FM

Genotyp	Glucose	Stabw	Genotyp	Fructose	Stabw	Genotyp	Saccharose	Stabw
710015	1645,66	± 88,91	Himuro Fuyugosi Gosun No.2	992,98	± 252,65	Shima Ninjin	2416,40	± 227,74
White Satin	1546,22	± 276,30	710015	958,74	± 64,29	Norfolk Giant	2284,10	± 721,97
Afghan Purple	1491,80	± 69,98	Afghan Purple	955,17	± 32,60	Mestnaya	2224,79	± 283,33
Yellowstone	1275,27	± 522,00	Mestnaya	937,21	± 537,11	China Yellow	2002,66	± 89,67
Western Red	1226,43	± 429,46	White Satin	895,40	± 168,95	Sapporo Futo (Danvers)	1989,47	± 381,25
Mestnaya	1206,87	± 740,47	Berlikum Perfecta	875,80	± 85,97	Lobbericher	1961,34	± 253,77
Himuro Fuyugosi Gosun No.2	1197,22	± 207,18	Panipat Special	875,23	± 248,56	Red Elephant	1846,59	± 99,44
Gelbe Rheinische	1102,83	± 92,55	Bitolski	798,32	± 352,16	Kokubu Senko Oonaga	1814,35	± 158,80
Victa	1065,14	± 127,75	Western Red	796,06	± 227,80	Seeds from Beijing	1811,90	± 96,79
Panipat Special	1056,97	± 248,46	Yellowstone	779,17	± 355,93	Nantes Fancy	1781,05	± 136,85

### 4.3 Ergebnisse des zweiten Assoziationsversuchs

Wie unter Punkt 4.2 angesprochen, wurde zusätzlich zu einem breit angelegten Screening von 100 Kulturmöhren genotypen ein Wildmöhrensortiment von 104 Genotypen auf ihre Carotinoid- und Polyacetylgehalte untersucht. Bei dem untersuchten Material handelte es sich um Genbankmaterial, welches fast ausschließlich weiß gefärbt war, und, wie bei Wildmaterial zu erwarten war, bis auf wenige Ausnahmen stark bis sehr stark verholzte Wurzeln ausbildete, welche für den menschlichen Genuss, aufgrund ihres stark bitteren Geschmacks, nicht geeignet waren. Bei den Untersuchungen lag das Augenmerk besonders auf den Polyacetylgehalten und weniger auf den Carotinoidkonzentrationen.

Wie aus der Tabelle 4-3-1 ersichtlich wird, sind besonders die für Wildmöhren hohen Carotinoidkonzentrationen zu beachten. Besonders auffällig sind der Mittelwert sowie die maximale Konzentration für  $\beta$ -Carotin. Diese lagen mit 4,90 und 69,96 mg/100 g FM deutlich über den Werten, welche im Assoziationsversuch I ermittelt wurden. Auch die Lutein-,  $\alpha$ -Carotin und Lycopin-Konzentrationen sind für fast vollständig weiß gefärbte Wildmöhren erstaunlich hoch und waren in dieser Form nicht zu erwarten. Im Fall des Genotyps, welcher die Maximalkonzentration an  $\beta$ -Carotin von 69,96 mg/100 g FM aufwies, handelt es sich um eine rot gefärbte Karotte, so dass diese hohe Konzentration nicht überrascht (siehe Abbildung A-7-33 im Anhang).

Wie bei Wildmöhren nicht anders zu erwarten, lagen die Polyacetylenkonzentrationen für alle drei Polyacetylene deutlich höher als bei den Kulturmöhren. Auffällig bei den Polyacetylenkonzentrationen sind überdies noch die hohen durchschnittlichen FaDOH-Konzentrationen in den Wildmöhren sowie die ermittelte Maximalkonzentration von FaDOH, welche mit einer Konzentration von 465,22 mg/100 g FM erstaunlich hoch lag. Auch die Maximalkonzentration des FaOH ist mit 107,30 mg/100 g FM und einer durchschnittlichen Konzentration von 11,85 mg/100 g FM in den Wildmöhren sehr hoch.

Auf die beiden Monosaccharide Glucose und Fructose sowie auf das Disaccharid Saccharose wurde aufgrund von fehlendem Probenmaterial verzichtet.

Tabelle 4-3-1: Inhaltsstoffspektrum mit Maxima, Minima, Mittelwerten, Standardabweichungen sowie der Anzahl der gültigen Stichproben von 104 Wildmöhrengenotypen in mg/100 g FM

Inhaltsstoffe (n = 104)	Minimum	Maximum	MW	Stabw
Lutein	0,00	8,20	0,31	1,01
$\alpha$ -Carotin	0,00	4,06	0,09	0,41
$\beta$ -Carotin	0,00	69,96	4,90	10,10
Lycopin	0,00	0,54	0,01	0,05
FaDOH	1,09	465,22	56,53	66,48
FaDOH-3-Acetat	0,32	39,96	4,76	6,13
FaOH	0,42	107,30	11,85	18,90

#### 4.3.1 Verteilung der Carotinoide in 104 Wildmöhrengenotypen

In den Abbildungen 4-3-1 bis 4-3-4 sind die Histogramme der drei Zielcarotinoide des zweiten Assoziationsversuchs dargestellt. Aus ihnen werden die Verteilungsmuster, bezogen auf den jeweiligen Inhaltsstoff, in 104 Wildmöhren, ersichtlich. In roter Farbe ist die errechnete Gaußsche Glockenkurve der Normalverteilung hinterlegt. Aus Gründen der grafischen Darstellung sind in allen folgenden Histogrammen z. T. die Nullwerte dem negativen Bereich zugeordnet.

Wie nicht anders zu erwarten, sind die meisten der weißen Genotypen Wildmöhren nicht besonders reich an Carotinoiden. Den Abbildungen 4-3-1 bis 4-3-4 ist zu entnehmen, dass bei den allermeisten Genotypen nur niedrige Konzentrationen nachzuweisen waren. Die regelmäßigen Konzentrationen betrugen bei Lutein bis 1 mg/100 g FM, bei  $\alpha$ -Carotin bis 0,5 mg/100 g FM und bei  $\beta$ -Carotin bis 10 mg/100 g FM. Einzelne Genotypen weisen noch Konzentrationen im Bereich von 5-6 mg/100 g FM und 8-9 mg/100 g FM für Lutein und 0,5-1 mg/100 g FM und 4-4,5 mg/100 g FM für  $\alpha$ -Carotin auf. Bei der Konzentrationsverteilung des  $\beta$ -Carotins findet eine starke Häufung im unteren Bereich statt. Einige Genotypen weisen höhere Werte auf. Sie sind relativ gleichmäßig über die Konzentrationsbereiche bis 50 mg/100 g FM verteilt. Mit 69,96 mg/100 g FM an  $\beta$ -Carotin erscheint noch ein Genotyp mit einer für Wildmöhren sehr untypisch hohen  $\beta$ -Carotinkonzentration. Dies ist jedoch im Fall des Genotyps 171 durch die rote Färbung der Karottenwurzel zu erkennen (siehe Abbildung A-7-33 im Anhang).

Lycopin fand sich nur in zwei der untersuchten Genotypen Wildmöhren. Es wurden 0,06 mg/100 g FM und 0,54 mg/100 g FM festgestellt. Die Wurzeln dieser Genotypen waren wie die der anderen Wildtypen ebenfalls weiß.



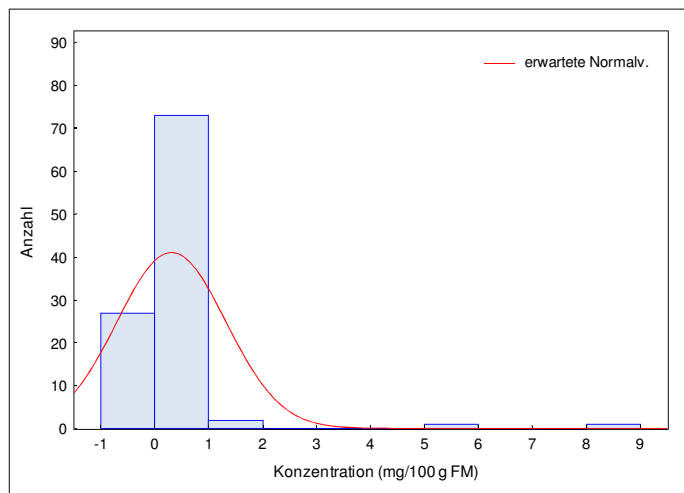


Abbildung 4-3-1: Histogramm der Luteinverteilungen in 104 Wildmöhrengenotypen des zweiten Assoziationsversuchs

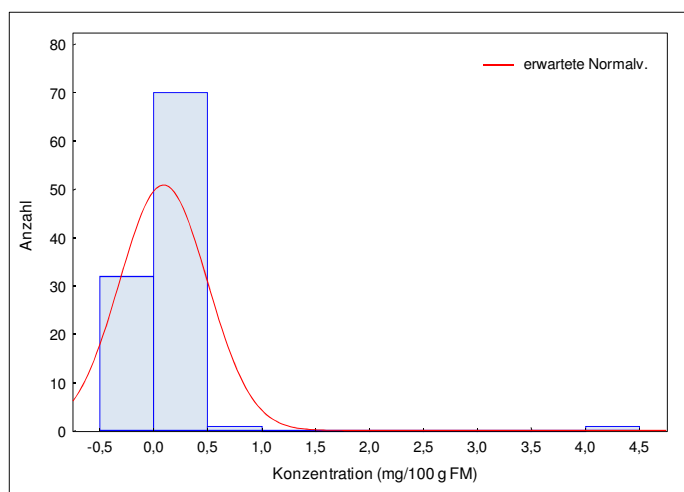


Abbildung 4-3-2: Histogramm der  $\alpha$ -Carotinverteilungen in 104 Wildmöhrengenotypen des zweiten Assoziationsversuchs

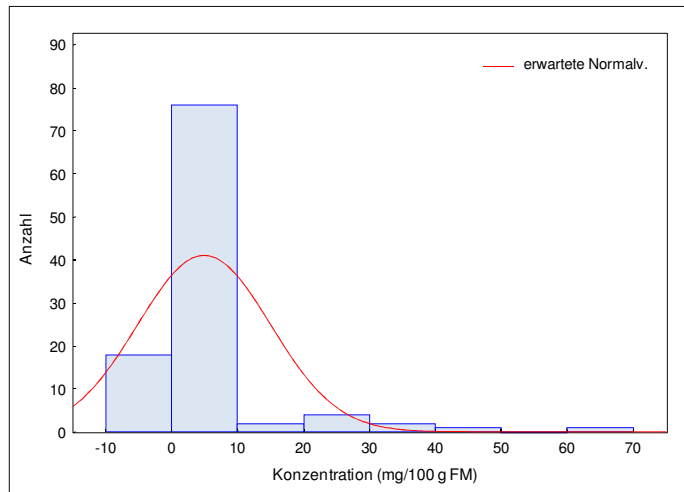


Abbildung 4-3-3: Histogramm der  $\beta$ -Carotinverteilungen in 104 Wildmöhrengenotypen des zweiten Assoziationsversuchs

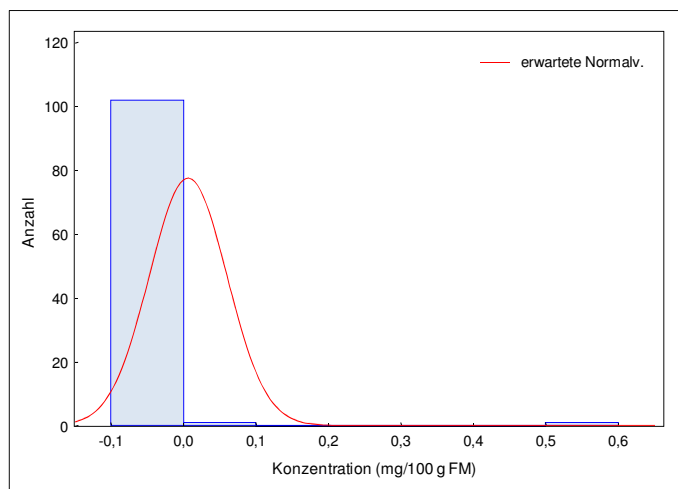


Abbildung 4-3-4: Histogramm der Lycopinverteilungen in 104 Wildmöhrengenotypen des zweiten Assoziationsversuchs

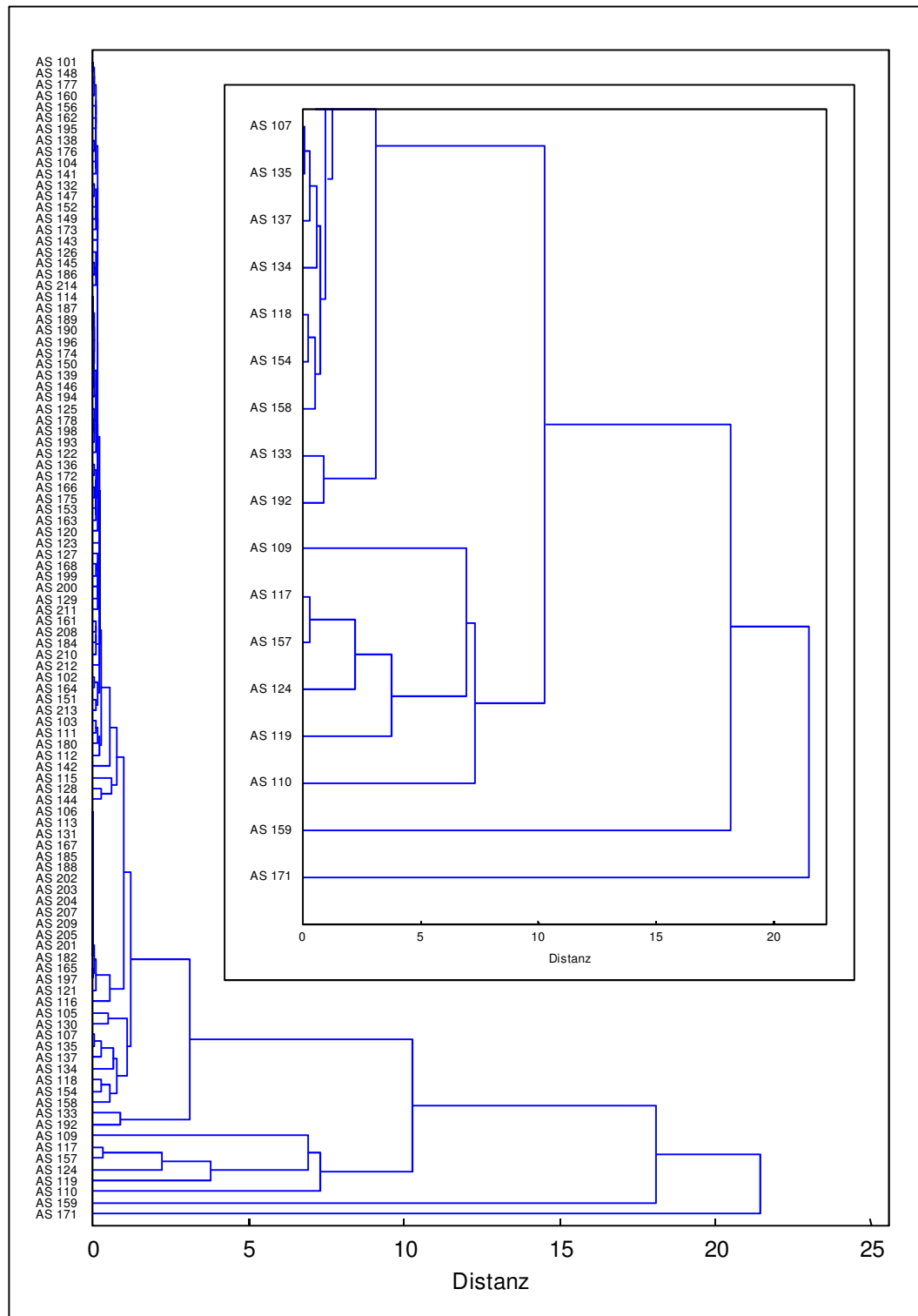


Abbildung 4-3-5: Dendrogramm der Carotinoidverteilung in 104 Wildmöhrengenotypen, basierend auf einer dreifachen Wiederholung je Genotyp

Wie der Abbildung 4-3-5 zu entnehmen ist, werden bei der Durchführung einer PCA mit dem Carotinoiddatensatz der 104 Wildmöhrengenotypen deutlich acht Genotypen aufgezeigt, welche ein von den übrigen Genotypen abweichendes Carotinoidmuster aufweisen. Bei den acht Genotypen handelt es sich um die Nummern 171, 159, 110, 119, 124, 157, 117 und

109. Die Nummern 171, 159 und 110 zeigen in der aufgeführten Reihenfolge die deutlichsten Unterschiede in ihrem Carotinoidmuster im Verhältnis zu den übrigen Genotypen.

Tabelle 4-3-2: Acht Ausreißer aus 104 Wildmöhrengenotypen mit außergewöhnlichem Carotinoidspektrum in mg/100 g FM

Nr.	Spezies/ssp.	Lutein	Stabw	$\alpha$ -Carotin	Stabw	$\beta$ -Carotin	Stabw	Lycopin	Stabw
AS 171	<i>D.c. carota</i>	0,78	± 0,12	4,06	± 0,42	69,96	± 11,40	0,00	± 0,00
AS 159	<i>D. involucratus</i>	0,00	± 0,00	0,32	± 0,43	48,84	± 41,03	0,00	± 0,00
AS 110	<i>D. pusillus</i>	6,00	± 2,76	0,00	± 0,00	20,95	± 10,09	0,00	± 0,00
AS 119	<i>D. involucratus</i>	0,00	± 0,00	0,00	± 0,00	25,13	± 0,43	0,00	± 0,00
AS 124	<i>D.c. carota</i>	1,43	± 0,19	0,95	± 0,74	30,79	± 22,42	0,00	± 0,00
AS 157	<i>D. muricatus</i>	0,00	± 0,00	0,18	± 0,22	29,24	± 38,03	0,00	± 0,00
AS 117	<i>D. involucratus</i>	0,00	± 0,00	0,20	± 0,17	28,90	± 13,72	0,00	± 0,00
AS 109	<i>D. muricatus</i>	8,20	± 1,55	0,00	± 0,00	31,70	± 0,30	0,00	± 0,00

Die acht Ausreißer sind in der Tabelle 4-3-2 im Detail mit ihren Carotinoidgehalten in mg/100 g FM dargestellt. Die Konzentrationen an  $\beta$ -Carotin sind ausschlaggebend für die Stärke der Abweichung von den übrigen Genotypen. Mit einem  $\beta$ -Carotingehalt von 69,96 mg/100 g FM hat der Genotyp mit der Nummer 171 den höchsten Gehalt an  $\beta$ -Carotin unter den Wildmöhren. Jedoch auch die weiteren Ausreißer haben mit  $\beta$ -Carotingehalten von 48,84 mg/100 g FM (AS 159) und 31,70 mg/100 g FM (AS 109) für weiße Wildmöhren extrem hohe  $\beta$ -Carotinkonzentrationen aufzuweisen. Auffällig sind außerdem die, von zwei Ausnahmen abgesehen, sehr niedrigen Lutein- und – mit einer Ausnahme - auch  $\alpha$ -Carotingehalte. In keinem Genotyp der sich durch die statistische Verrechnung ergebenden Ausreißer konnte Lycopin nachgewiesen werden. Eine weitere Besonderheit sind die zum Teil erheblichen Standardabweichungen. So weist der Genotyp 159 eine Standardabweichung von 41,03 mg/100 g FM bei einer  $\beta$ -Carotinkonzentration von 48,84 mg/100 g FM auf, dies entspricht einer prozentualen Standardabweichung von 84 %. Die breite Varianz der Gehalte an  $\beta$ -Carotin innerhalb eines Genotyps der untersuchten Wildmöhren zeigt sich bei AS 157 mit einer Standardabweichung von 38,03 bei einem Mittelwert von 29,24 mg/100 g FM. Dies ist, wie schon zu Beginn dieses Kapitels angesprochen, ein rechnerisches Phänomen.

#### 4.3.2 Polyacetylenverteilung in 104 Wildmöhrengenotypen

Wie den Abbildungen 4-3-6 bis 4-3-8, den Histogrammen der Polyacetylenkonzentrationen für die untersuchten 104 Genotypen Wildmöhren, zu entnehmen ist, konzentriert sich die Verteilung der Gehalte an Polyacetylenen im unteren Bereich. Zu beachten ist jedoch die

Skalierung. Hinsichtlich der Konzentration an FaDOH finden sich die meisten Genotypen (fast 90 von 104) in einem Bereich von 0 bis 100 mg/100 g FM. Auch in dem Konzentrationsbereich von 100 bis 200 mg/100 g FM sind immer noch über 10 Genotypen zu finden. Die restlichen Genotypen verteilen sich sehr gleichmäßig über die Konzentrationsbereiche bis zu 500 mg/100 g FM.

Auch bei der Verteilung der Faltarindiol-3-Acetat-Konzentrationen finden sich die meisten Genotypen im untersten Bereich von 0 bis 5 mg/100 g FM. Die restlichen Genotypen verteilen sich kaskadisch bis zu einer Konzentration von 30 mg/100 g FM. Bei einem Genotyp (AS 146) wurden 39,96 mg/100 g FM gemessen.

Aus dem Histogramm für das stark bioaktive FaOH ist ebenfalls eine deutliche Häufung der Genotypen im Konzentrationsbereich bis 20 mg/100 g FM zu finden, während sich nach einem deutlichen Einbruch die übrigen Genotypen auf die Konzentrationsbereiche bis 120 mg/100 g FM verteilen.

Für die Polyacetylene FaDOH und FaOH ist beachtenswert, dass nicht wenige Genotypen hohe Konzentrationen dieser beiden Verbindungen aufweisen.

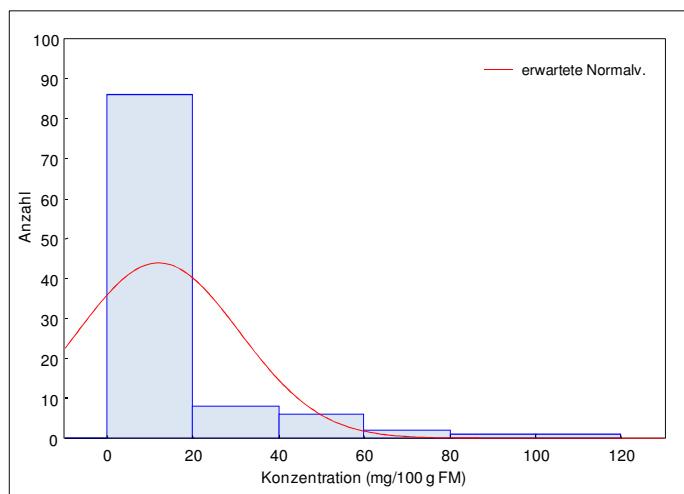


Abbildung 4-3-6: Histogramm der FaOH-Verteilung in 104 Wildmöhrengenotypen des zweiten Assoziationsversuchs

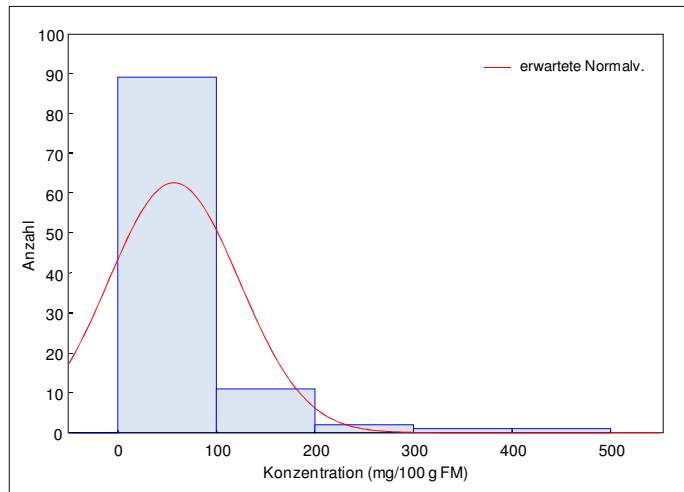


Abbildung 4-3-7: Histogramm der FaDOH-Verteilungen in 104 Wildmöhrengenotypen des zweiten Assoziationsversuchs

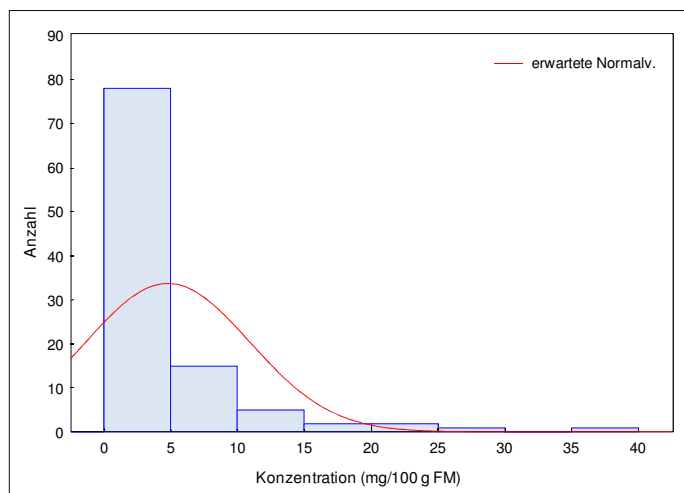


Abbildung 4-3-8: Histogramm der FaDOH-3-Acetat-Verteilungen in 104 Wildmöhrengenotypen des zweiten Assoziationsversuchs

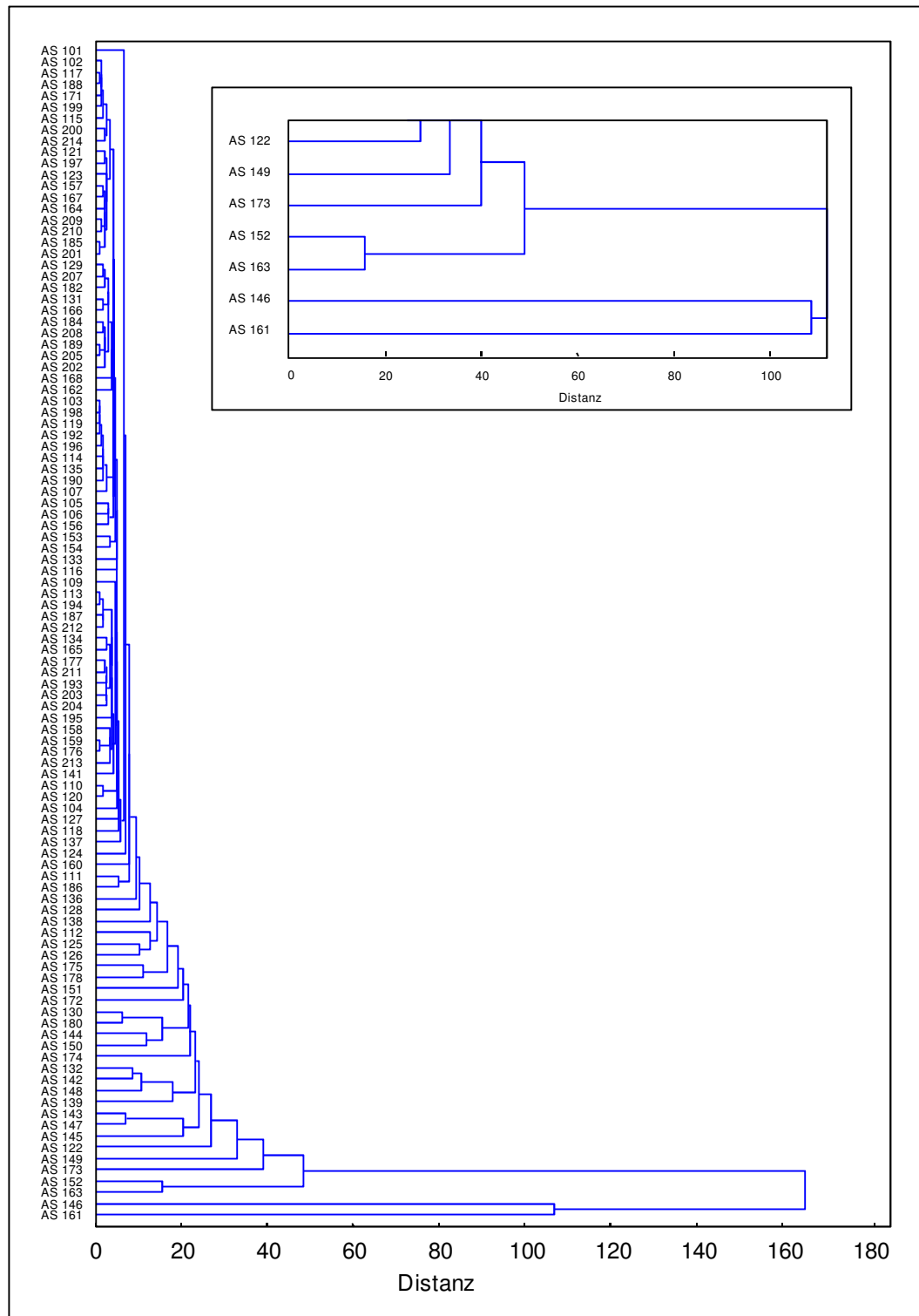


Abbildung 4-3-9: Dendrogramm der Polyacetylenverteilung in 104 Wildmöhrengenotypen, basierend auf einer dreifachen Wiederholung je Genotyp

In der Abbildung 4-3-9 ist die statistische Verrechnung der 104 Wildmöhrengenotypen in Bezug auf die drei Polyacetylene FaOH, FaDOH und FaDOH-3-Acetat aufgeführt. Aus dieser Abbildung wird eine Ausreißergruppe von sieben Genotypen ersichtlich. Bei diesen handelt es sich um die Nummern 161, 146, 163, 152, 173, 149 und 122, wobei die Nummern 161

und 146 mit der größten Abweichung der Polyacetylenkonzentration von der der restlichen Genotypen ein eigenes Cluster bilden. Sehr gut aus der Abbildung 4-3-9 zu ersehen ist zum einen die große Distanz, welche die Ausreißergruppe (161 und 146) hat, zum anderen die kaskadisch aufgebaute Angleichung der restlichen Ausreißer an die übrigen Genotypen. Beachtlich ist auch die große Distanz zwischen den Ausreißern und den restlichen Genotypen sowie den beiden Nummern 161 und 146 und den restlichen fünf Ausreißern.

Werden die sieben Ausreißer genauer betrachtet, so wird aus der Tabelle 4-3-3 ersichtlich, dass vor allem die FaDOH-Konzentrationen maßgeblichen Einfluss auf die Gruppierung der Genotypen haben. Größte Konzentrationen haben die beiden Ausreißer Nr. 161 und 146 mit 366,56 bzw. 465,22 mg/100 g FM aufzuweisen. Dies sind Gehalte, die bis um das Zehnfache höher liegen als die FaDOH-Konzentrationen in den Kulturmöhren mit den höchsten Konzentrationen an FaDOH. Neben sehr hohen FaDOH-Gehalten zeigen die beiden Ausreißer überdies sehr hohe FaOH-Gehalte mit 13,03 mg/100 g FM und 31,81 mg/100 g FM. Den höchsten Gehalt an FaOH weist mit 107,30 mg/100 g FM der Genotyp 173 auf. Diese Konzentration ist um mehr als das Dreifache höher als die höchsten FaOH-Konzentrationen bei Kulturmöhren. Den höchsten Gehalt an FaDOH-3-Acetat weist mit 39,96 mg/100 g FM der Genotyp mit der Nr. 146 auf. Hiermit liegt die Konzentration in diesem Wildtyp um mehr als das Doppelte höher als bei dem Kulturmöhrengenotyp mit dem höchsten FaDOH-3-Acetat-Gehalt.

Zu erwähnen sind außerdem die großen Standardabweichungen, welche sich z. B. beim Genotyp 146 in Bezug auf die FaDOH-3-Acetat-Konzentrationen mit einer Standardabweichung von 15,88 mg/100 g FM bei einem Absolutwert von 39,96 mg/100 g FM im Bereich von 39,7 % prozentualer Standardabweichung befinden.

Tabelle 4-3-3: Sieben Ausreißer aus 104 Wildmöhrengenotypen mit außergewöhnlichem Polyacetylenspektrum in mg/100 g FM

Nr.	Spezies/ssp. (n = 104)	FaDOH	Stabw	FaDOH-3-Acetat	Stabw	FaOH	Stabw
AS 161	<i>D. halophilus</i>	366,56 ± 49,80		3,90 ± 4,13		13,03 ± 4,28	
AS 146	<i>D.c. maritimus</i>	465,22 ± 90,59		39,96 ± 15,88		31,81 ± 6,21	
AS 163	<i>D.c.maximus</i>	201,51 ± 39,20		8,93 ± 1,96		11,57 ± 6,58	
AS 152	<i>D.c. azoricus</i>	202,58 ± 51,33		21,03 ± 8,79		21,45 ± 3,86	
AS 173	<i>D.c. carota</i>	100,26 ± 66,69		5,32 ± 2,34		107,30 ± 44,84	
AS 149	<i>D.c. commutatus</i>	132,43 ± 67,76		14,94 ± 14,62		87,16 ± 47,61	
AS 122	<i>D.c.maximus</i>	27,63 ± 4,51		2,05 ± 0,85		76,05 ± 9,34	



### 4.3.3 Verrechnung der Carotinoiddaten mit Polyacetylenaten

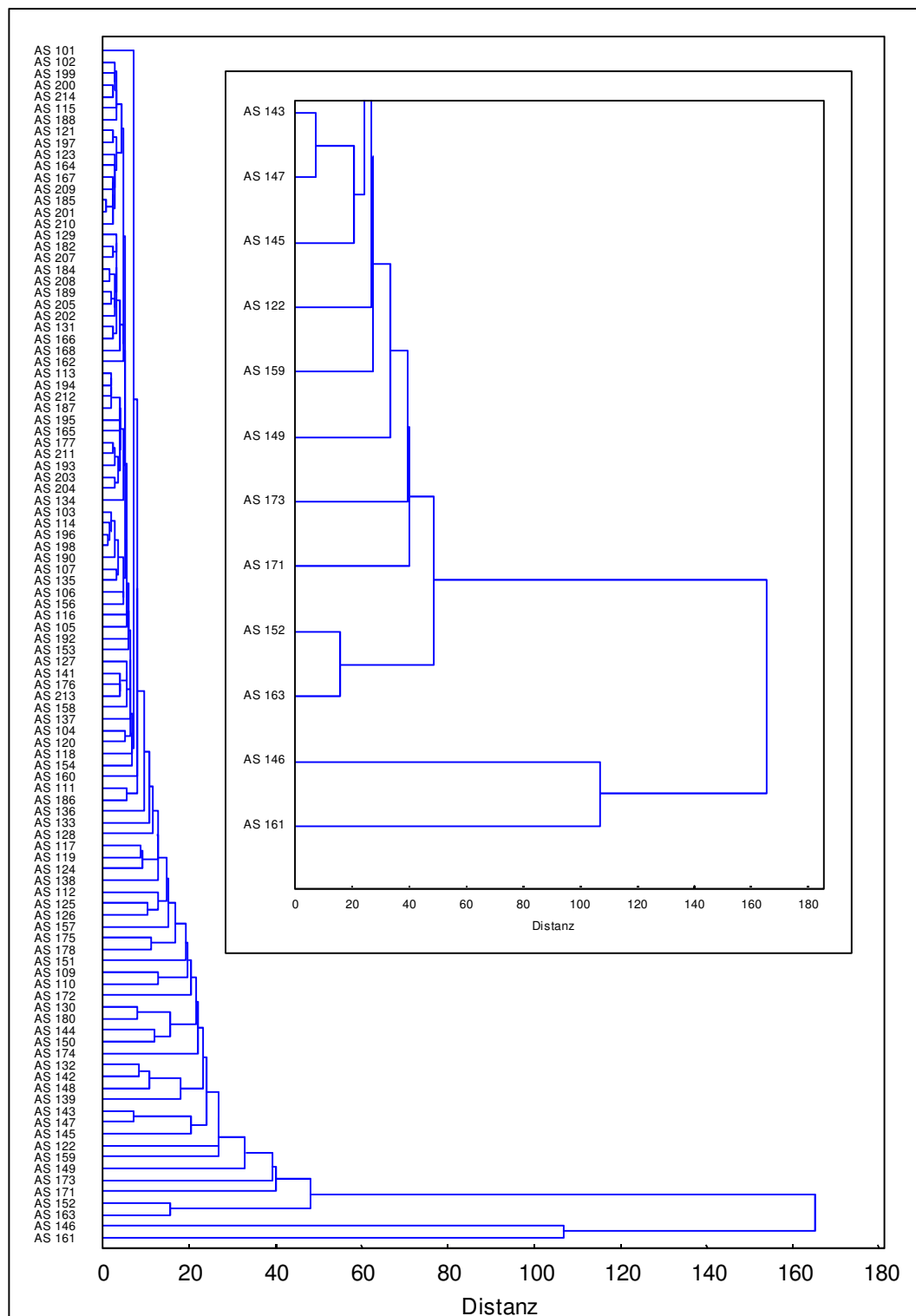


Abbildung 4-3-10: Dendrogramm der Carotinoid- und Polyacetylenverteilung in 104 Wildmöhrengenotypen basierend auf einer dreifachen Wiederholung je Genotyp

Die Verrechnung der Carotinoid- mit den Polyacetylenkonzentrationen der 104 Genotypen Wildmöhren erfolgte mittels Clusteranalyse. Dabei zeigten sich vier deutliche und fünf

weniger ausgeprägte Ausreißer (Abbildung 4-3-10). Bei den deutlichen Ausreißern handelte es sich um die Genotypen 161, 146, 163 und 152, bei den sechs weniger ausgeprägten Ausreißern um die Genotypen mit den Nr. 171, 173, 149, 159 und 122 (Tabelle 4-3-4). Werden die Ausreißer genauer betrachtet und mit den Ausreißern aus der Verrechnung der Carotinoiddaten einerseits und mit den Ausreißern aus der Verrechnung der Polyacetylenkonzentrationen andererseits verglichen, so ergibt sich, dass die ersten vier Genotypen der Verrechnung der Carotinoid- mit den Polyacetylenkonzentrationen ebenfalls die stärksten Ausreißer bei der Verrechnung der Polyacetylenkonzentrationen stellten. Die Genotypen 171 und 159 waren die stärksten Ausreißer bei der Verrechnung der Carotinoiddaten. Die Genotypen 173, 149 und 122 stammen wieder aus den Verrechnungsergebnissen der Polyacetylenkonzentrationen. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass bei der Verrechnung der Carotinoid- und der Polyacetylenkonzentrationen der Wildtypen die Polyacetylene den größten Einfluss auf die sich bildenden Cluster und somit die größte Bedeutung bei den untersuchten Genotypen haben. Wie nicht anders zu erwarten, sind die Carotinoidkonzentrationen in den Wildmöhren, von wenigen Ausnahmen abgesehen, eher gering und haben somit nur einen begrenzten Einfluss bei der statistischen Verrechnung.

Tabelle 4-3-4: Neun Ausreißer aus 104 Wildmöhrengenotypen mit außergewöhnlichem Polyacetylen- und Carotinoidspektrum in mg/100 g FM

Nr.	Spezies/ssp. (n = 104)	Lutein	Stabw	$\alpha$ -Carotin	Stabw	$\beta$ -Carotin	Stabw	Lycopin	Stabw	FaDOH	Stabw	FaDOH-3-Acetat	Stabw	FaOH	Stabw
AS 161	<i>D. halophilus</i>	0,70	± 0,21	0,09	± 0,02	1,81	± 0,54	0,00	± 0,00	366,56	± 49,80	3,90	± 4,13	13,03	± 4,28
AS 146	<i>D.c. maritimus</i>	0,14	± 0,10	0,01	± 0,00	1,55	± 0,25	0,00	± 0,00	465,22	± 90,59	39,96	± 15,88	31,81	± 6,21
AS 163	<i>D.c. maximus</i>	0,03	± 0,04	0,02	± 0,00	1,01	± 0,09	0,00	± 0,00	201,51	± 39,20	8,93	± 1,96	11,57	± 6,58
AS 152	<i>D.c. azoricus</i>	0,12	± 0,09	0,02	± 0,00	2,20	± 0,50	0,06	± 0,06	202,58	± 51,33	21,03	± 8,79	21,45	± 3,86
AS 171	<i>D.c. carota</i>	0,78	± 0,12	4,06	± 0,42	69,96	± 11,40	0,00	± 0,00	12,34	± 1,68	1,49	± 0,31	1,46	± 0,44
AS 173	<i>D.c. carota</i>	0,32	± 0,15	0,03	± 0,01	2,26	± 0,76	0,00	± 0,00	100,26	± 66,69	5,32	± 2,34	107,30	± 44,84
AS 149	<i>D.c. commutatus</i>	0,20	± 0,13	0,03	± 0,01	2,22	± 1,00	0,00	± 0,00	132,43	± 67,76	14,94	± 14,62	87,16	± 47,61
AS 159	<i>D. involucreatus</i>	0,00	± 0,00	0,32	± 0,43	48,84	± 41,03	0,00	± 0,00	63,23	± 61,58	2,42	± 0,06	4,27	± 3,65
AS 122	<i>D.c. maximus</i>	0,24	± 0,19	0,02	± 0,01	1,68	± 0,27	0,00	± 0,00	27,63	± 4,51	2,05	± 0,85	76,05	± 9,34

#### 4.3.4 Validierung der Analyseergebnisse anhand von statistischen Methoden

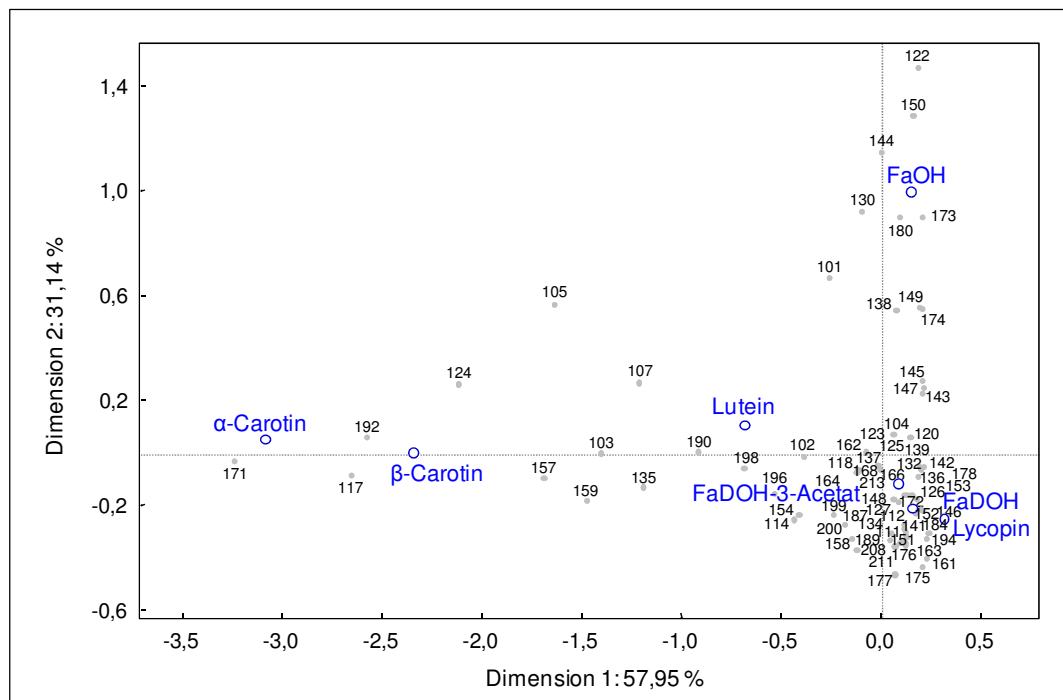


Abbildung 4-3-11: Korrespondenzanalyse von Carotinoiden und Polyacetylenen in 104 Wildmöhrengenotypen mit jeweils dreifacher Wiederholung je Genotyp.

Die Abbildung 4-3-11 zeigt eine Korrespondenzanalyse der Carotinoid- und Polyacetylengehalte der 104 Genotypen Wildmöhren. Damit wird zum einen die Verteilung der Genotypen, basierend auf dem größten Einfluss des jeweiligen Inhaltsstoffs, dargestellt. Zum anderen ist eine Plausibilitätskontrolle der durchgeführten Analysen möglich. Dieses geschieht durch die Lage der Inhaltsstoffe zueinander. So stimmt die Gruppierung von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin und von FaDOH und FaDOH-3-Acetat mit den erwarteten Ergebnissen überein. Auch die Lagen von Lutein, Lycopin und FaOH stimmen mit den erwarteten Ergebnissen überein.

Wie aus der Abbildung 4-3-11 außerdem ersichtlich ist, wird der Standort der meisten Genotypen der Wildmöhren durch deren Gehalte an Falcarindiol oder Falcarindiol-3-Acetat beeinflusst. Sie häufen sich somit an diesen Stellen. Nur wenige Genotypen gruppieren sich um die Carotinoide  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin sowie um das Polyacetylen FaOH und werden somit durch deren Gehalt gekennzeichnet.

#### 4.3.5 Verteilung der Polyacetylenkonzentrationen in Wild- und Kulturmöhren

In der folgenden Tabelle 4-3-5 sind die Verteilungen der drei Polyacetylene FaDOH, FaDOH-3-Acetat und FaOH unter den Wild- und Kulturmöhren dargestellt. Die Kulturmöhren sind

---

durch die orangene Farbe gekennzeichnet, um einen schnellen visuellen Überblick zu bekommen. Wie deutlich zu erkennen ist, weisen die Wildmöhren bei FaDOH die höchsten Konzentrationen auf. Allerdings auch beim FADOH-3-Acetat und beim FaOH sind deutlich die Wildtypen die Genotypen mit den höchsten Konzentrationen, wobei bei diesen beiden Polyacetylenen eine stärkere Durchmischung mit den Kulturmöhren zu beobachten ist.

Tabelle 4-3-5: Verteilung der Polyacetylene FaDOH, FaDOH-3-Acetat und FaOH in 104 Wild- und 104 Kulturmöhren in mg/100 g FM

Genotyp	FaDOH	Stabw	Genotyp	FaDOH-3-Acetat	Stabw	Genotyp	FaOH	Stabw
AS 146	465,22 ±	90,59	AS 146	39,96 ±	15,88	AS 173	107,30 ±	44,84
AS 161	366,56 ±	49,80	AS 172	29,87 ±	15,44	AS 149	87,16 ±	47,61
AS 152	202,58 ±	51,33	AS 151	24,44 ±	8,02	AS 122	76,05 ±	9,34
AS 163	201,51 ±	39,20	AS 152	21,03 ±	8,79	AS 145	60,15 ±	73,87
AS 139	155,58 ±	124,86	AS 145	15,67 ±	7,52	AS 147	54,23 ±	15,28
AS 145	152,75 ±	7,63	AS 126	15,45 ±	15,81	AS 150	50,57 ±	5,70
AS 132	138,95 ±	36,77	AS 149	14,94 ±	14,62	AS 143	49,06 ±	21,59
AS 148	138,95 ±	49,06	Anthonina	14,93 ±	3,09	AS 130	48,79 ±	11,60
AS 143	134,18 ±	61,83	AS 136	14,42 ±	2,18	AS 180	42,72 ±	32,39
AS 147	133,50 ±	68,43	AS 139	14,24 ±	9,42	AS 174	40,27 ±	9,96
AS 149	132,43 ±	67,76	AS 147	12,78 ±	5,08	AS 144	39,80 ±	5,46
AS 142	131,16 ±	75,88	AS 148	10,32 ±	14,33	AS 146	31,81 ±	6,21
AS 175	116,46 ±	60,21	AS 153	9,42 ±	0,61	AS 139	30,14 ±	26,57
AS 178	110,45 ±	38,41	AS 132	9,12 ±	3,39	Anthonina	28,11 ±	18,47
AS 173	100,26 ±	66,69	AS 163	8,93 ±	1,96	AS 132	25,51 ±	2,20
AS 126	97,59 ±	63,51	Schweizer Rübli	8,65 ±	2,17	AS 142	22,28 ±	16,17
AS 125	94,85 ±	29,25	Blanche 1/2 longue des vosges	8,15 ±	4,31	AS 128	21,67 ±	2,45
AS 112	91,79 ±	47,12	AS 143	7,83 ±	3,15	AS 152	21,45 ±	3,86
AS 151	82,71 ±	31,63	AS 142	7,77 ±	5,10	AS 138	20,35 ±	13,63
AS 186	77,30 ±	5,30	AS 125	7,07 ±	1,21	AS 125	18,16 ±	12,60
AS 111	75,42 ±	39,32	AS 127	7,02 ±	3,70	Landrace	17,73 ±	6,44
AS 160	72,48 ±	34,52	AS 101	6,95 ±	5,32	JKI-Selektion	16,30 ±	3,54
AS 141	68,19 ±	35,55	AS 154	6,89 ±	2,93	Deep Purple F1	16,20 ±	4,97
AS 176	64,22 ±	38,60	AS 150	6,82 ±	2,56	JKI-Selektion	14,91 ±	3,05
AS 137	64,01 ±	16,27	Yellowstone	6,81 ±	6,23	AS 148	14,85 ±	5,03
AS 159	63,23 ±	61,58	AS 111	6,67 ±	3,68	AS 110	13,03 ±	14,73
AS 213	62,22 ±	23,47	AS 137	6,63 ±	4,12	AS 161	13,03 ±	4,28
AS 174	62,02 ±	7,54	AS 195	6,52 ±	2,86	AS 126	12,73 ±	1,03
AS 158	61,49 ±	22,95	AS 193	5,34 ±	3,67	AS 178	11,93 ±	6,48
AS 127	59,92 ±	44,98	AS 173	5,32 ±	2,34	AS 137	11,91 ±	4,05
AS 204	58,03 ±	39,84	Regulus Imperial	5,10 ±	2,69	AS 120	11,57 ±	2,95
AS 118	57,98 ±	0,51	AS 184	4,88 ±	1,64	AS 163	11,57 ±	6,58
AS 203	55,78 ±	47,22	AS 174	4,82 ±	0,76	AS 160	10,77 ±	5,95
AS 172	55,30 ±	10,20	AS 178	4,77 ±	3,53	AS 104	10,56 ±	4,12
AS 211	53,37 ±	32,84	AS 160	4,74 ±	1,46	AS 118	10,50 ±	3,04
AS 177	51,72 ±	12,60	AS 168	4,62 ±	1,90	AS 116	10,11 ±	13,10
AS 193	50,90 ±	9,21	AS 133	4,62 ±	3,02	Gajar	10,03 ±	4,69
AS 128	50,89 ±	11,41	White Satin	4,54 ±	0,79	AS 124	9,43 ±	4,84
AS 134	49,25 ±	46,06	White Belgian	4,33 ±	1,02	AS 106	8,77 ±	0,59
AS 165	48,73 ±	21,72	AS 118	4,31 ±	0,14	AS 101	8,51 ±	4,79
AS 195	46,76 ±	20,90	710015	4,17 ±	3,49	AS 213	7,44 ±	8,32
AS 194	45,65 ±	44,89	AS 130	4,13 ±	0,73	710015	6,94 ±	1,47
AS 120	45,62 ±	16,40	AS 166	4,07 ±	0,95	AS 109	6,78 ±	3,49
AS 110	45,42 ±	39,68	AS 205	4,05 ±	2,56	AS 112	6,60 ±	3,69
AS 113	45,38 ±	16,96	AS 131	4,00 ±	0,83	Afghan Purple	6,50 ±	2,62
AS 187	44,42 ±	32,13	AS 161	3,90 ±	4,13	Syrian Purple	6,34 ±	1,53
AS 109	44,39 ±	33,44	AS 187	3,75 ±	1,61	AS 207	6,24 ±	2,94
AS 212	44,05 ±	37,12	Nantes Empire	3,71 ±	2,14	Blanche 1/2 longue des vosges	6,18 ±	3,36
Anthonina	42,40 ±	10,77	AS 208	3,60 ±	1,58	Yellowstone	6,17 ±	1,35
AS 136	42,11 ±	10,26	Persia No. 242	3,59 ±	2,06	AS 136	6,09 ±	1,50
AS 104	40,58 ±	6,19	AS 177	3,54 ±	2,08	AS 129	5,90 ±	3,75
AS 168	40,11 ±	11,36	AS 157	3,47 ±	3,60	AS 105	5,80 ±	5,49
AS 189	38,39 ±	5,87	Landrace	3,32 ±	1,45	AS 172	5,79 ±	0,67
AS 130	37,99 ±	27,67	AS 107	3,24 ±	0,91	Yellow Belgian	5,74 ±	2,19
AS 205	37,98 ±	13,81	AS 189	3,23 ±	0,94	AS 162	5,67 ±	2,23
AS 180	37,78 ±	26,29	AS 141	3,14 ±	1,25	Shahpur Special	5,66 ±	2,65
AS 202	37,54 ±	16,50	AS 123	3,14 ±	1,80	AS 133	5,59 ±	2,88
AS 129	36,48 ±	22,09	AS 165	3,08 ±	1,94	AS 156	5,54 ±	0,73
AS 207	36,41 ±	15,56	AS 213	3,07 ±	2,33	AS 131	5,47 ±	3,65
AS 184	36,24 ±	15,51	AS 129	2,92 ±	1,82	AS 123	5,43 ±	4,72
AS 182	35,70 ±	23,03	AS 135	2,86 ±	2,78	Panipat Special	5,41 ±	1,95
AS 208	35,19 ±	4,25	AS 203	2,85 ±	2,99	AS 186	5,05 ±	0,78
Yellowstone	34,85 ±	10,53	Kuettiger	2,73 ±	2,29	HCM	5,05 ±	3,83
AS 166	34,12 ±	8,90	AS 197	2,68 ±	1,86	Mestnaya	4,98 ±	2,54
AS 131	32,45 ±	5,45	Yamanouchi Ishyaku Senko	2,68 ±	1,69	AS 168	4,89 ±	3,91
Landrace	32,31 ±	3,33	AS 180	2,64 ±	1,23	AS 127	4,64 ±	2,15
AS 138	31,60 ±	5,20	AS 211	2,62 ±	1,09	AS 166	4,59 ±	0,67
AS 153	30,06 ±	7,83	AS 200	2,61 ±	1,60	Nantes Empire	4,56 ±	0,59
AS 162	30,03 ±	11,61	AS 112	2,59 ±	2,14	Danver's Red Core	4,53 ±	3,75
AS 154	29,91 ±	7,24	AS 175	2,56 ±	0,91	AS 176	4,36 ±	3,09
710015	29,36 ±	10,57	Touchon Format	2,53 ±	1,29	AS 153	4,30 ±	0,51
AS 201	27,74 ±	13,85	Deep Purple F1	2,47 ±	0,93	AS 159	4,27 ±	3,65
Regulus Imperial	27,64 ±	19,08	AS 159	2,42 ±	0,06	AS 141	4,23 ±	1,33
AS 122	27,63 ±	4,51	AS 212	2,36 ±	1,67	AS 167	4,22 ±	1,22
AS 185	27,50 ±	10,16	Berlikum Perfecta	2,34 ±	1,11	AS 164	4,12 ±	3,15
AS 157	26,99 ±	17,37	AS 144	2,30 ±	1,03	AS 182	4,06 ±	3,47
AS 167	26,03 ±	4,16	AS 199	2,23 ±	2,62	AS 165	4,05 ±	0,23
AS 209	25,19 ±	9,31	Himuro Fuyugosi Gosun No.2	2,22 ±	0,59	Cyrano	3,98 ±	0,76
AS 164	24,11 ±	23,95	Vita Longa	2,20 ±	1,46	Persia No. 242	3,90 ±	3,00
AS 116	23,98 ±	27,92	Nantes Duke	2,19 ±	0,85	Sapporo Futo (Danvers)	3,85 ±	3,20
AS 210	23,84 ±	5,08	AS 176	2,15 ±	1,39	Beta III	3,85 ±	2,83
AS 123	23,57 ±	11,10	Red Elephant	2,14 ±	0,76	JKI-Selektion	3,70 ±	1,54
Nantes Empire	23,49 ±	16,40	AS 210	2,13 ±	0,27	Shima Ninjin	3,66 ±	2,87
Vita Longa	22,96 ±	11,41	AS 194	2,10 ±	0,94	China Yellow	3,59 ±	2,57
AS 144	22,45 ±	1,90	AS 122	2,05 ±	0,85	Pusa Kesar	3,48 ±	2,79
Syrian Purple	21,54 ±	5,19	Rotin	2,05 ±	0,85	AS 157	3,47 ±	2,75
Schweizer Rübli	21,44 ±	6,50	AS 120	1,99 ±	0,44	AS 203	3,43 ±	1,97
AS 197	21,13 ±	14,14	AS 167	1,98 ±	0,32	AS 195	3,36 ±	1,03
AS 150	20,82 ±	8,55	AS 190	1,97 ±	1,15	AS 151	3,32 ±	2,23
AS 121	20,48 ±	4,74	AS 104	1,85 ±	0,34	AS 111	3,25 ±	0,55
Blanche 1/2 longue des vosges	20,04 ±	6,32	Tropical	1,81 ±	0,99	Gajar	3,14 ±	3,14
Gajar	19,94 ±	8,21	AS 138	1,78 ±	0,65	AS 204	3,10 ±	2,90
Afghan Purple	18,89 ±	8,87	Syrian Purple	1,76 ±	0,43	Santa Cruz	3,08 ±	3,37
JKI-Selektion	18,79 ±	4,31	Lobbericher	1,72 ±	1,28	Yamanouchi Ishyaku Senko	2,96 ±	0,98
White Satin	18,64 ±	4,30	AS 186	1,72 ±	0,14	Nantejska Polana	2,92 ±	2,64
AS 133	18,06 ±	15,95	Gelbe Rheinische	1,63 ±	0,77	Kuettiger	2,88 ±	1,40
Yamanouchi Ishyaku Senko	17,90 ±	16,48	AS 204	1,63 ±	0,90	White Satin	2,81 ±	0,37
Touchon Format	17,76 ±	9,01	Nantes Palisade	1,62 ±	0,16	AS 175	2,76 ±	0,57
AS 200	17,68 ±	5,34	Nerac F1	1,59 ±	0,78	AS 107	2,75 ±	1,20

(Fortsetzung Tabelle 4-3-5)

Genotyp	FaDOH	Stabw	Genotyp	FaDOH-3-Acetat	Stabw	Genotyp	FaOH	Stabw
Nana W 561	17,46 ± 3,28		AS 196	1,57 ± 0,77		AS 115	2,74 ± 0,67	
Deep Purple F1	16,79 ± 4,91		Long Red	1,52 ± 1,02		Senta	2,66 ± 2,40	
Persia No. 242	16,32 ± 4,36		Cyrano	1,52 ± 1,04		Nantes Half Long	2,64 ± 0,78	
Yellow Belgian	16,28 ± 3,99		AS 128	1,50 ± 0,05		AS 102	2,58 ± 0,02	
Mello Yello F1	16,13 ± 5,07		AS 109	1,49 ± 0,11		Nantes Palisade	2,52 ± 1,94	
Himuro Fuyugosi Gosun No.2	16,00 ± 4,89		AS 171	1,49 ± 0,31		AS 187	2,50 ± 3,01	
Shima Ninjin	15,91 ± 3,32		Senta	1,45 ± 0,56		Western Red	2,47 ± 1,32	
HCM	15,83 ± 8,78		AS 116	1,44 ± 1,87		AS 185	2,41 ± 1,84	
AS 214	15,80 ± 3,72		AS 182	1,43 ± 1,20		White Belgian	2,40 ± 0,49	
Nantes Duke	15,49 ± 6,39		AS 209	1,43 ± 0,81		Touchon Format	2,37 ± 1,94	
JKI-Selektion	15,47 ± 4,49		Gajar	1,42 ± 0,94		Nantes Apollo	2,35 ± 1,48	
JKI-Selektion	14,89 ± 2,02		JKI-Selektion	1,40 ± 1,15		Beacon	2,35 ± 1,85	
Gelbe Rheinische	14,18 ± 2,30		AS 134	1,38 ± 1,65		Schweizer Rübli	2,33 ± 0,65	
Sapporo Futo (Danvers)	14,11 ± 12,15		AS 110	1,37 ± 0,94		AS 121	2,30 ± 1,69	
Kuettiger	13,94 ± 9,18		Alghan Purple	1,36 ± 0,75		AS 154	2,28 ± 0,13	
AS 199	13,59 ± 7,37		AS 113	1,33 ± 0,07		AS 193	2,19 ± 0,60	
AS 124	13,55 ± 6,79		AS 185	1,32 ± 0,41		AS 210	2,19 ± 0,93	
White Belgian	13,36 ± 1,45		AS 214	1,32 ± 1,18		AS 209	2,17 ± 0,89	
Shahpur Special	12,84 ± 1,92		Amsterdam 3 (Spojnia Nochowo)	1,32 ± 0,73		AS 134	2,16 ± 1,71	
Nutired	12,75 ± 5,07		Rainbow F1	1,30 ± 0,65		Regulus Imperial	2,05 ± 2,08	
AS 102	12,41 ± 1,80		Santa Cruz	1,29 ± 0,83		AS 197	2,04 ± 1,17	
AS 171	12,34 ± 1,68		AS 114	1,29 ± 0,56		AS 211	2,04 ± 0,68	
Santa Cruz	11,65 ± 7,08		Nantes Apollo	1,23 ± 0,70		Shinsuu Senkou Oonaga	2,03 ± 2,25	
Berikum Perfecta	11,34 ± 3,87		JKI-Selektion	1,23 ± 0,54		AS 184	2,03 ± 0,53	
AS 188	11,28 ± 1,81		Bitolski	1,23 ± 0,88		AS 194	1,99 ± 2,55	
Seeds from Beijing	11,20 ± 8,06		Western Red	1,22 ± 0,36		Nerac F1	1,89 ± 1,08	
AS 117	11,02 ± 7,28		AS 201	1,21 ± 0,75		Mello Yello F1	1,89 ± 0,80	
Long Red	10,93 ± 4,40		Moskovskaja Zimnaja	1,15 ± 1,34		Berikum Perfecta	1,89 ± 0,13	
Panipat Special	10,87 ± 4,06		AS 202	1,15 ± 0,66		Lobbericher	1,89 ± 1,22	
Gajar	10,80 ± 8,02		Mello Yello F1	1,14 ± 0,60		AS 214	1,88 ± 0,20	
Senta	10,70 ± 3,72		Sytan	1,12 ± 1,19		St. Valery	1,86 ± 2,78	
Nerac F1	10,34 ± 4,83		Nagykallo	1,12 ± 0,66		AS 189	1,85 ± 0,67	
China Yellow	10,23 ± 1,09		AS 192	1,08 ± 0,19		AS 158	1,82 ± 1,03	
Beta III	10,11 ± 5,46		AS 124	1,07 ± 0,11		AS 113	1,81 ± 0,78	
Lobbericher	9,82 ± 5,96		Nantejska Polana	1,06 ± 0,71		Nantes Fancy	1,77 ± 2,26	
AS 115	9,81 ± 5,08		AS 158	1,04 ± 0,61		AS 212	1,74 ± 1,21	
Cyrano	9,67 ± 3,68		Mestnaya	1,02 ± 0,37		Himuro Fuyugosi Gosun No.2	1,69 ± 0,69	
Nagykallo	8,99 ± 1,43		Purple Stem Selektion	1,01 ± 0,35		AS 188	1,68 ± 0,90	
Tropical	8,54 ± 3,52		Stratova	1,00 ± 0,80		AS 201	1,66 ± 0,21	
St. Valery	8,17 ± 4,43		HCM	1,00 ± 0,38		AS 208	1,59 ± 0,15	
Beacon	7,84 ± 4,21		Beacon	0,98 ± 0,81		Gelbe Rheinische	1,58 ± 0,68	
Mestnaya	7,73 ± 2,27		Niiza Etton Gosun	0,98 ± 0,40		Nagykallo	1,55 ± 0,44	
Western Red	7,66 ± 3,12		AS 207	0,98 ± 0,40		Purple Stem Selektion	1,54 ± 0,49	
Nantes Apollo	7,62 ± 3,55		St. Valery	0,94 ± 0,26		AS 202	1,50 ± 0,38	
Victa	7,57 ± 2,34		Nana W 561	0,93 ± 0,15		Winterperfection	1,48 ± 1,76	
Purple Stem Selektion	7,53 ± 3,18		AS 117	0,90 ± 0,11		AS 171	1,46 ± 0,44	
Nantes Palisade	7,50 ± 1,05		AS 156	0,88 ± 0,35		AS 192	1,44 ± 0,34	
Rotin	7,39 ± 3,45		AS 162	0,87 ± 0,26		Norfolk Giant	1,43 ± 1,53	
Bericum Normal	7,32 ± 1,60		JKI-Selektion	0,87 ± 0,36		Nantes Duke	1,42 ± 0,92	
Nantes Half Long	6,89 ± 2,51		AS 188	0,87 ± 0,29		AS 205	1,32 ± 0,30	
Stratova	6,55 ± 3,63		Red Giant	0,86 ± 0,45		Nana W 561	1,31 ± 0,50	
Moskovskaja Zimnaja	6,43 ± 9,13		Short n'Sweet	0,86 ± 0,34		Stupicka k Rychleni	1,29 ± 2,09	
Red Giant	6,32 ± 1,48		Vitaminaja	0,85 ± 0,61		Nutired	1,29 ± 1,05	
Amsterdam 3 (Spojnia Nochowo)	6,19 ± 0,99		Yellow Belgian	0,79 ± 0,58		Nevis	1,24 ± 0,87	
AS 114	6,12 ± 2,48		Sapporo Futo (Danvers)	0,77 ± 0,56		AS 200	1,09 ± 0,42	
Danvers' Red Core	6,10 ± 3,84		AS 164	0,77 ± 0,61		AS 199	1,06 ± 0,48	
Nyiregyhaza	5,91 ± 4,62		Winterperfection	0,76 ± 0,65		London Torve, B Tagenshus III	1,05 ± 0,40	
AS 135	5,65 ± 4,75		Victa	0,74 ± 0,18		Vita Longa	1,04 ± 0,29	
Gold Pak	5,46 ± 1,08		Norfolk Giant	0,73 ± 0,43		Red Giant	0,93 ± 0,22	
Vitaminaja	5,44 ± 3,17		Shima Ninjin	0,72 ± 0,15		Nyiregyhaza	0,93 ± 0,44	
Nantes Fancy	5,20 ± 4,04		Nantes Fancy	0,72 ± 0,49		Long Red	0,89 ± 0,75	
Red Elephant	4,86 ± 3,89		Nutired	0,70 ± 0,26		Bericum Normal	0,88 ± 0,21	
AS 198	4,74 ± 2,14		Nantes Half Long	0,70 ± 0,42		Texto	0,87 ± 0,76	
AS 101	4,67 ± 1,41		Beta III	0,70 ± 0,36		AS 117	0,86 ± 0,35	
Rainbow F1	4,50 ± 1,29		Stupicka k Rychleni	0,68 ± 0,82		AS 198	0,86 ± 0,32	
Viking	4,50 ± 3,06		Shahpur Special	0,64 ± 0,29		AS 103	0,84 ± 0,39	
AS 196	4,44 ± 2,20		Gajar	0,61 ± 0,40		Kokubu Senko Oonaga	0,81 ± 1,13	
Norfolk Giant	4,41 ± 1,97		Seeds from Beijing	0,61 ± 0,18		Victa	0,80 ± 0,44	
Winterperfection	4,38 ± 3,54		Nevis	0,60 ± 0,38		Purple Haze F1	0,78 ± 0,57	
Niiza Etton Gosun	4,31 ± 2,31		Danvers' Red Core	0,59 ± 0,35		Seeds from Beijing	0,78 ± 0,40	
AS 105	4,29 ± 2,60		China Yellow	0,58 ± 0,03		Amsterdamer Master	0,77 ± 1,06	
Nantejska Polana	4,23 ± 3,47		London Torve, B Tagenshus III	0,57 ± 0,36		Moskovskaja Zimnaja	0,74 ± 0,00	
Lozin147	4,15 ± 2,13		AS 102	0,57 ± 0,16		AS 135	0,73 ± 0,25	
Mestnaya	3,98 ± 1,27		AS 106	0,56 ± 0,19		Rotin	0,71 ± 0,28	
London Torve, B Tagenshus III	3,96 ± 2,24		Lozin147	0,56 ± 0,35		AS 177	0,70 ± 0,21	
AS 103	3,81 ± 3,09		Nyiregyhaza	0,55 ± 0,49		Bolero	0,65 ± 0,51	
Nevis	3,81 ± 2,13		AS 119	0,53 ± 0,04		Stratova	0,64 ± 0,46	
Bitolski	3,81 ± 3,43		Viking	0,51 ± 0,31		Mestnaya	0,62 ± 0,00	
Shinsuu Senkou Oonaga	3,76 ± 2,84		Purple Haze F1	0,50 ± 0,22		Niiza Etton Gosun	0,61 ± 0,39	
Sytan	3,68 ± 3,93		AS 105	0,50 ± 0,23		Tropical	0,60 ± 0,08	
AS 192	3,66 ± 1,48		Bericum Normal	0,49 ± 0,33		AS 196	0,58 ± 0,36	
Champion Scarlet Horn	3,61 ± 2,29		Panipat Special	0,49 ± 0,23		AS 190	0,58 ± 0,28	
Short n'Sweet	3,57 ± 2,11		Hakata Kintoki	0,47 ± 0,42		Rainbow F1	0,57 ± 0,17	
AS 106	3,35 ± 1,43		Mestnaya	0,47 ± 0,31		Hekinan Senko 5sun	0,57 ± 0,43	
Lange Rote Stumple ohne Herz 1	3,29 ± 0,86		Kokubu Senko Oonaga	0,46 ± 0,28		Lozin147	0,57 ± 0,28	
Flakkeer Regina	3,28 ± 2,00		AS 115	0,43 ± 0,34		Amsterdam 3 (Spojnia Nochowo)	0,51 ± 0,13	
Amsterdamer Master	3,26 ± 3,77		Texto	0,42 ± 0,34		AS 119	0,48 ± 0,06	
AS 107	3,22 ± 2,81		Gold Pak	0,42 ± 0,12		Presto	0,48 ± 0,36	
Pusa Kesar	3,21 ± 1,66		Flakkeer Regina	0,41 ± 0,32		Lange Rote Stumple ohne Herz 1	0,43 ± 0,28	
Bolero	3,16 ± 2,49		Champion Scarlet Horn	0,41 ± 0,21		AS 114	0,42 ± 0,13	
Kokubu Senko Oonaga	3,14 ± 3,46		AS 121	0,38 ± 0,10		Sytan	0,40 ± 0,26	
Texto	3,06 ± 2,31		AS 198	0,38 ± 0,06		Delta a Cuoro Rosso	0,38 ± 0,48	
AS 119	2,96 ± 0,92		Presto	0,35 ± 0,22		Viking	0,34 ± 0,41	
Delta a Cuoro Rosso	2,87 ± 4,15		Delta a Cuoro Rosso	0,35 ± 0,50		Bitolski	0,34 ± 0,26	
Benifuku Fuyngosi 5 Sun	2,83 ± 1,60		Bolero	0,34 ± 0,22		Gold Pak	0,34 ± 0,30	
Presto	2,47 ± 1,65		Hekinan Senko 5sun	0,33 ± 0,29		Champion Scarlet Horn	0,30 ± 0,35	
Stupicka k Rychleni	2,43 ± 2,54		AS 103	0,32 ± 0,15		Vitaminaja	0,28 ± 0,06	
Hakata Kintoki	2,29 ± 2,65		Nantes Liva	0,29 ± 0,20		Benifuku Fuyngosi 5 Sun	0,21 ± 0,12	
Purple Haze F1	2,13 ± 1,74		Shinsuu Senkou Oonaga	0,29 ± 0,15		Flakkeer Regina	0,20 ± 0,23	
Hekinan Senko 5sun	1,98 ± 1,45		Amsterdamer Master	0,25 ± 0,06		Short n'Sweet	0,16 ± 0,15	
AS 190	1,58 ± 1,97		Benifuku Fuyngosi 5 Sun	0,24 ± 0,05		Hakata Kintoki	0,16 ± 0,10	
Nantes Liva	1,27 ± 0,93		Bericumer Bercoro RS	0,21 ± 0,05		Red Elephant	0,15 ± 0,05	
Bericumer Bercoro RS	1,22 ± 0,37		Lange Rote Stumple ohne Herz 1	0,19 ± 0,03		Bericumer Bercoro RS	0,13 ± 0,02	
AS 156	1,09 ± 0,49		Pariser Markt	0,18 ± 0,20		Nantes Liva	0,12 ± 0,12	
Pariser Markt	0,82 ± 0,78		Pusa Kesar	0,16 ± 0,01		Pariser Markt	0,08 ± 0,01	

#### 4.4 Ergebnisse der zweijährigen, zweiortigen Feldversuche Krakow-Quedlinburg

##### 4.4.1 Carotinoidkonzentrationen in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow und Quedlinburg

Für die Feldstudien wurden an den beiden Standorten Krakow und Quedlinburg in den Jahren 2008 und 2009 jeweils dieselben zehn Genotypen Kulturmöhren angebaut und die Gehalte der vier Zielcarotinoide untersucht.

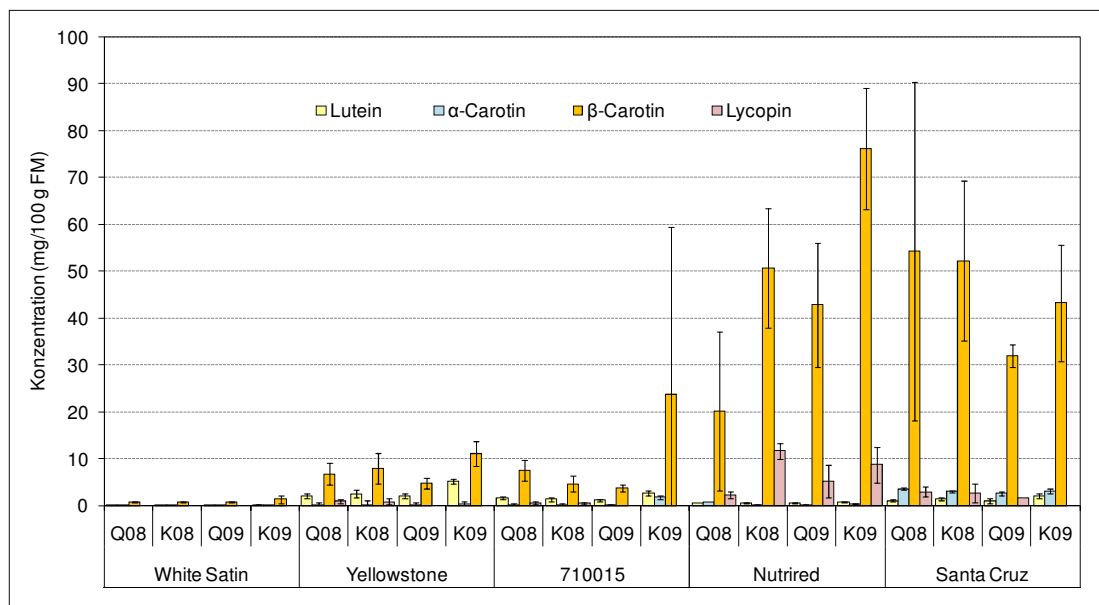


Abbildung 4-4-1: Carotinoidkonzentrationen in den Sorten 'White Satin', 'Yellowstone', '710015', 'Nutired' und 'Santa Cruz' in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow (K) und Quedlinburg (Q)

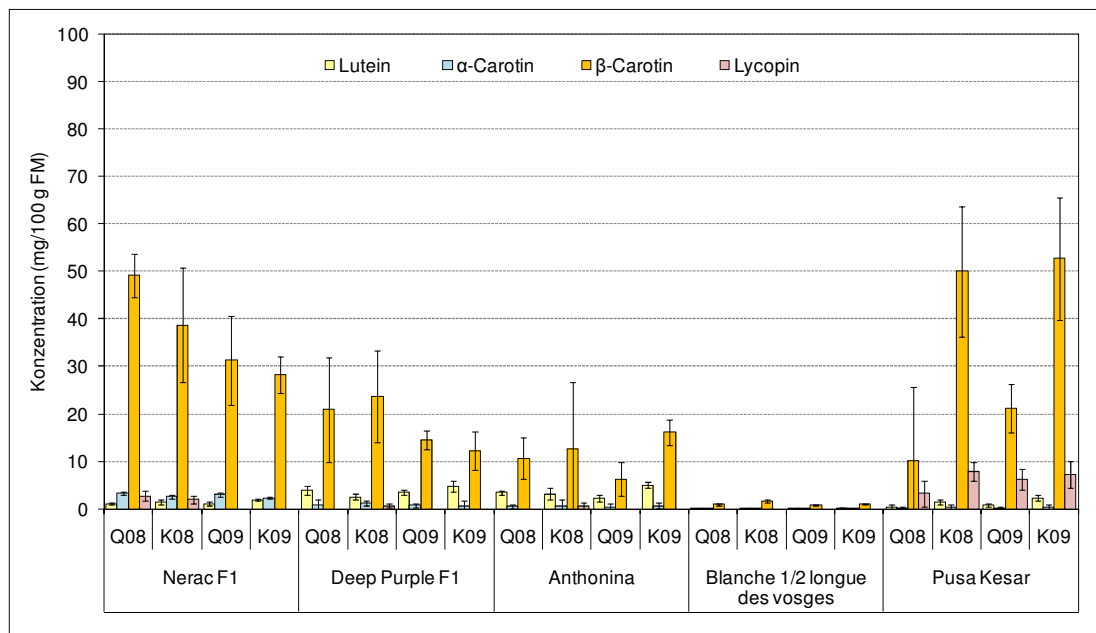


Abbildung 4-4-2: Carotinoidkonzentrationen in den Sorten 'Nerac F1', 'Deep Purple F1', 'Anthonina', 'Blanche ½ longue des vosges' und 'Pusa Kesar' in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow (K) und Quedlinburg (Q)

In den Abbildungen 4-4-1 und 4-4-2 sind die Carotinoidkonzentrationen in den zehn Kulturmöhren 'White Satin', 'Yellowstone', '710015', 'Nutrired', 'Santa Cruz', 'Nerac F1', 'Deep Purple F1', 'Anthonina', 'Blanche ½ longue des vosges' sowie 'Pusa Kesar' dargestellt, die in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow und Quedlinburg im Freiland angebaut wurden. Wie nicht anders zu erwarten, weisen die beiden weißen Karottensorten 'White Satin' und 'Blanche ½ longue des vosges' nur sehr geringe Carotinoidkonzentrationen auf, sodass sie für die Betrachtung der Entwicklung der Carotinoidkonzentrationen in Abhängigkeit von Standort und Anbaujahr ohne Bedeutung bleiben.

Sehr gut zu erkennen sind die teilweise großen Unterschiede hinsichtlich der Carotinoidgehalte sowohl zwischen den unterschiedlichen Anbauorten als auch den zwei Anbaujahren. Deutlich sichtbar ist aber auch, dass es kaum ein festes Muster in der Carotinoidverteilung abhängig von Standort und Jahr gibt. Für die Sorten 'Yellowstone', 'Nutrired', 'Anthonina' und 'Pusa Kesar' ist jedoch, zumindest für den β-Carotinoidgehalt, ein solches Muster zu erkennen. Bei diesen vier Sorten sind die β-Carotinoidkonzentrationen an dem Standort Quedlinburg in jeweils beiden Anbaujahren geringer als die Konzentrationen in Krakow. Bei den Sorten 'Nutrired' und 'Pusa Kesar' nimmt bei beiden Standorten der β-Carotinoidgehalt von 2008 zu 2009 zu.



Die acht hier betrachteten Kulturmöhren reagieren in Bezug auf ihre Carotinoidkonzentrationen sehr unterschiedlich auf die verschiedenen Anbauorte und Anbaujahre. Werden die Ergebnisse für die verschiedenen Sorten an den beiden Anbauorten betrachtet, so wird deutlich, dass besonders die Sorten 'Nutrired' und 'Pusa Kesar' am Standort Krakow höhere Carotinoidkonzentrationen aufweisen. Auch für die übrigen, am Standort Quedlinburg gezogenen Sorten wurden regelmäßig keine deutlich höheren Carotinoidkonzentrationen gemessen als das bei den am Standort Krakow angebauten der Fall war. Eine Ausnahme ergibt sich für die 'Nerac F1', für die in beiden Jahren am Standort Quedlinburg größere Mengen an  $\beta$ -Carotin verzeichnet sind. Bemerkenswert ist auch die abnehmende Reihe der Gehalte an  $\beta$ -Carotin bei 'Nerac F1', die in dieser Gleichmäßigkeit sonst nicht erkennbar war. Aussagen zum Einfluss des Wetters auf den Carotinoidgehalt lassen sich wegen fehlender Wetterdaten für den Standort Krakow nicht treffen.

Bemerkenswert sind die z. T. großen Standardabweichungen der Carotinoidkonzentrationen. Sie differieren darüber hinaus noch erheblich zwischen den unterschiedlichen Standorten und Anbaujahren innerhalb der einzelnen Genotypen einerseits und zwischen den unterschiedlichen Genotypen andererseits.

#### 4.4.2 Polyacetylenkonzentrationen in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow und Quedlinburg

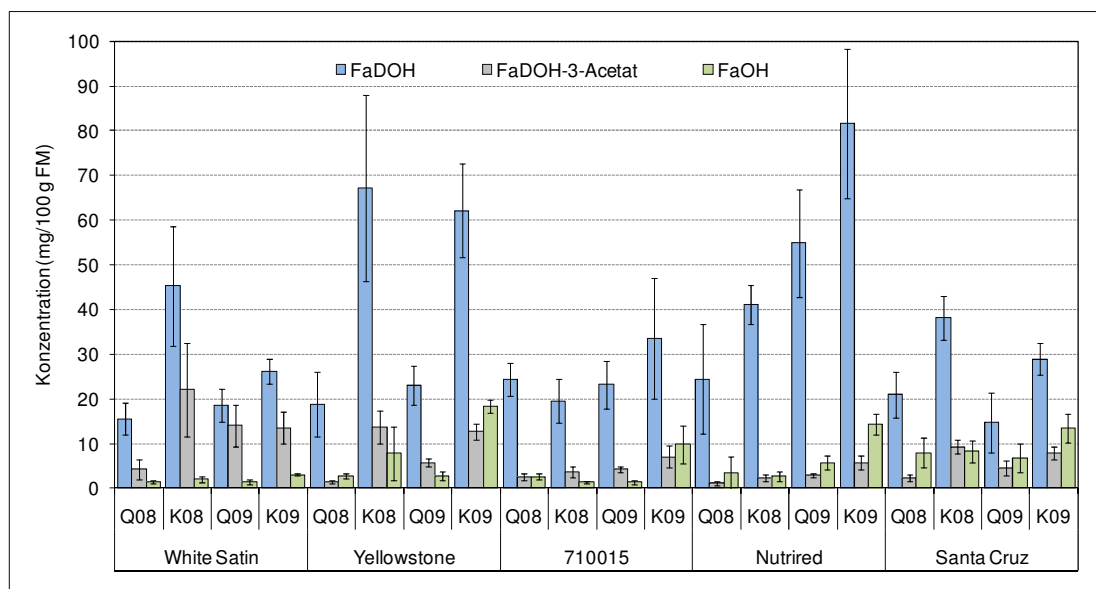


Abbildung 4-4-3: Polyacetylenkonzentrationen in den Sorten 'White Satin', 'Yellowstone', '710015', 'Nutrired' und 'Santa Cruz' in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow (K) und Quedlinburg (Q)

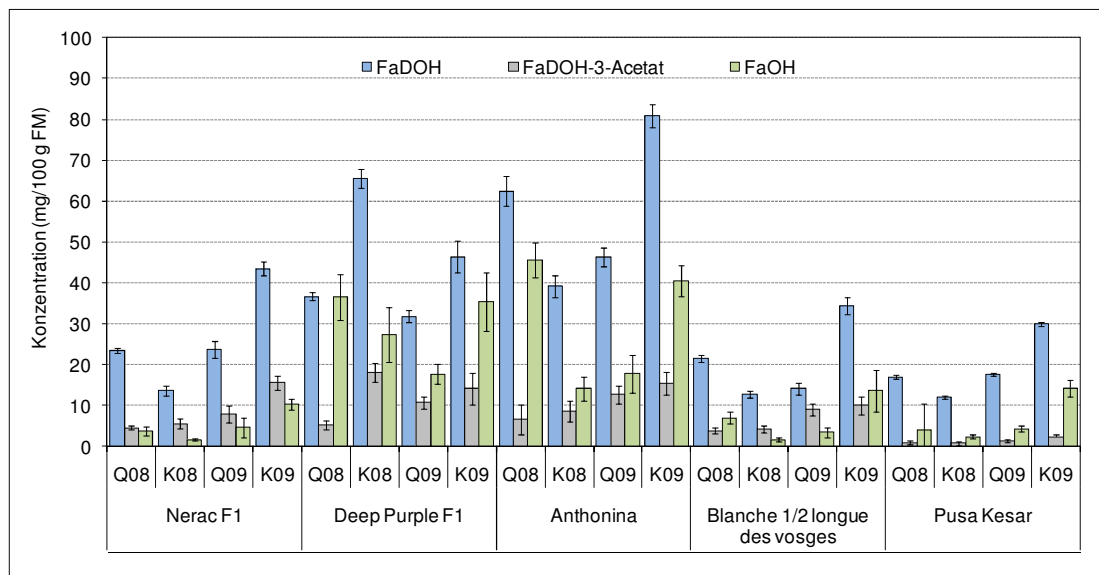


Abbildung 4-4-4: Polyacetylenkonzentrationen in den Sorten 'Nerac F1', 'Deep Purple F1', 'Anthonina', 'Blanche ½ longue des vosges' und 'Pusa Kesar' in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow (K) und Quedlinburg (Q)

In den Abbildungen 4-4-3 und 4-4-4 sind die Polyacetylenkonzentrationen in den zehn untersuchten Genotypen in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow und Quedlinburg dargestellt. Auch bei den Polyacetylenen ist deutlich zu erkennen, dass es z. T. große Unterschiede in den Konzentrationen zwischen den Anbauorten und Jahren gibt. Des Weiteren ist zu beachten, dass bei den Sorten 'White Satin', 'Yellowstone', 'Nutrired', 'Santa Cruz' und 'Deep Purple F1' die Polyacetylenkonzentrationen am Standort Krakow in beiden Jahren über denen am Standort Quedlinburg lagen. Kein anderer Genotyp zeigt jedoch ein entgegengesetztes Bild auf. Bei der Sorte 'Nutrired' lässt sich ein deutlicher Standorteinfluss auf die Polyacetylenkonzentrationen feststellen. In beiden Jahren sind am Standort Krakow die höheren FaDOH-Gehalte zu beobachten. Ob der Einflussfaktor Klima oder Boden am Standort Krakow die FaDOH-Konzentrationen maßgeblich beeinflusst, kann nicht beurteilt werden. Da jedoch am Standort Krakow, genau wie am Standort Quedlinburg, ausschließlich eine Versuchsanlage für die Feldversuche genutzt wurden, konnte der Einflussfaktor Boden nicht eliminiert werden.

Auffällig sind die hohen Konzentrationen an FaOH und FaDOH-3-Acetat bei den Sorten 'Anthonina' und 'Deep Purple F1'.

Insgesamt sind die z. T. großen Schwankungen bei den Polyacetylenkonzentrationen zu beachten. Sie variieren stark von Genotyp zu Genotyp, schwächer jedoch innerhalb der einzelnen Genotypen.

#### 4.4.3 Zuckerkonzentrationen in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow und Quedlinburg

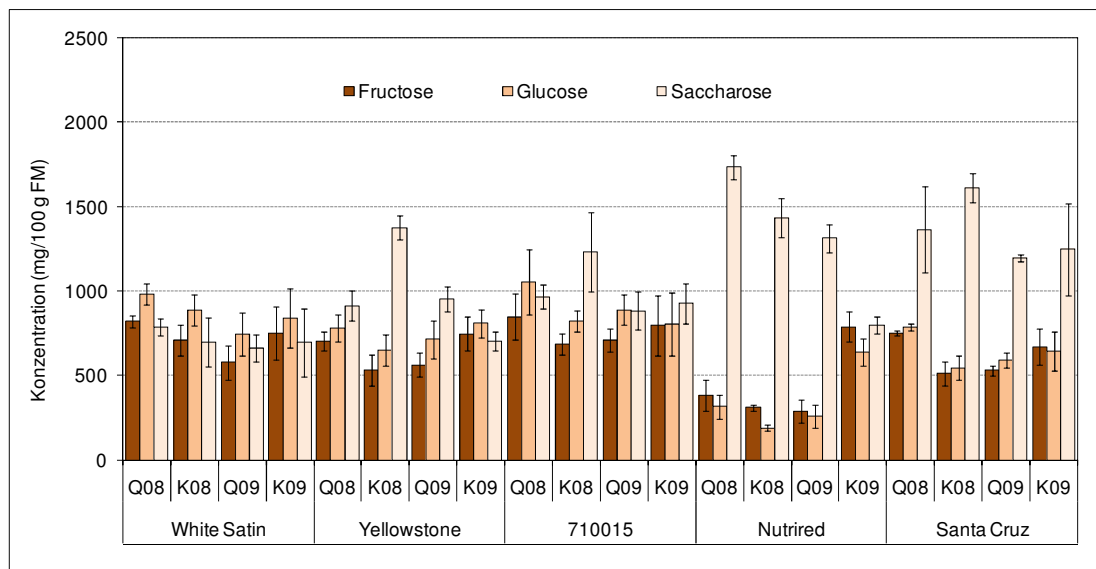


Abbildung 4-4-5: Zuckerkonzentrationen in den Sorten 'White Satin', 'Yellowstone', '710015', 'Nutrired' und 'Santa Cruz' in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow (K) und Quedlinburg (Q)

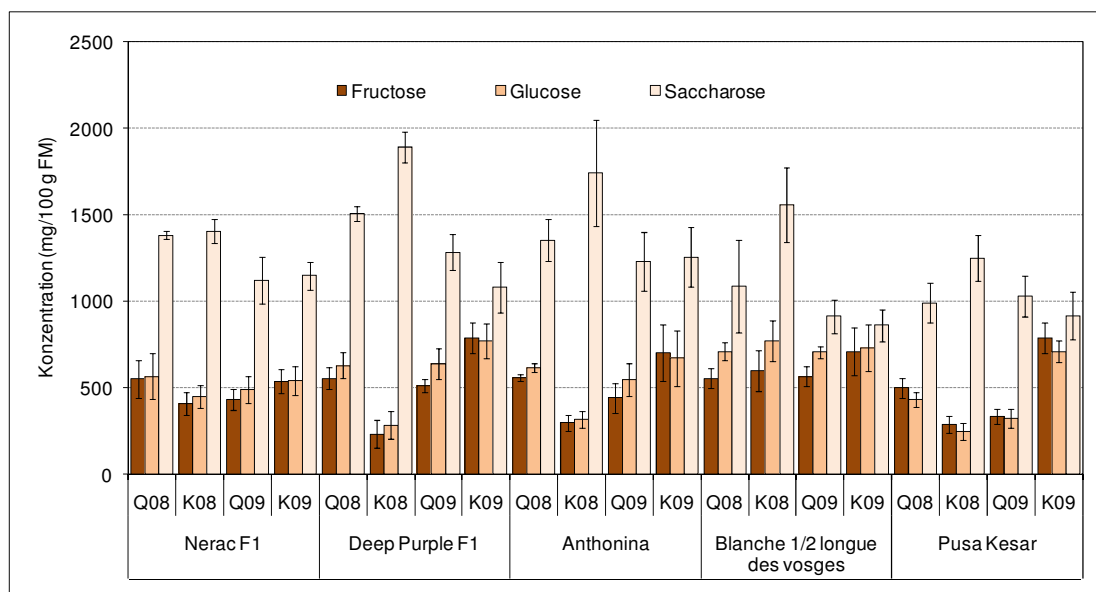


Abbildung 4-4-6: Zuckerkonzentrationen in den Sorten 'Nerac F1', 'Deep Purple F1', 'Anthonina', 'Blanche 1/2 longue des vosges' und 'Pusa Kesar' in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow (K) und Quedlinburg (Q)

In den Abbildungen 4-4-5 und 4-4-6 sind die Zuckerkonzentrationen der zehn untersuchten Kulturmöhrensorten an den Standorten Krakow und Quedlinburg in den Anbaujahren 2008 und 2009 dargestellt. Auch in Bezug auf die Zuckerkonzentrationen zeigen sich in den

untersuchten Sorten in den Jahren 2008 und 2009 an den Standorten Krakow und Quedlinburg z. T. große Schwankungen. Eine Ausnahme bilden die Sorten 'White Satin', 'Nerac F1' und '710015', bei denen die Zuckergehalte nur gering zwischen den zwei Anbaujahren und zwischen den unterschiedlichen Anbauorten schwanken. Dagegen sind bei den meisten anderen Genotypen deutliche Konzentrationsschwankungen zwischen den Standorten und den Anbaujahren festzustellen. Ein Trend zugunsten des Standorts Krakow, wie er bei den Carotinoid- und Polyacetylenkonzentrationen festgestellt werden kann, ist bei den Zuckergehalten nicht erkennbar.

#### 4.4.4 Bestimmung der Einflussfaktoren Standort und Jahr auf die nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe in der Karotte

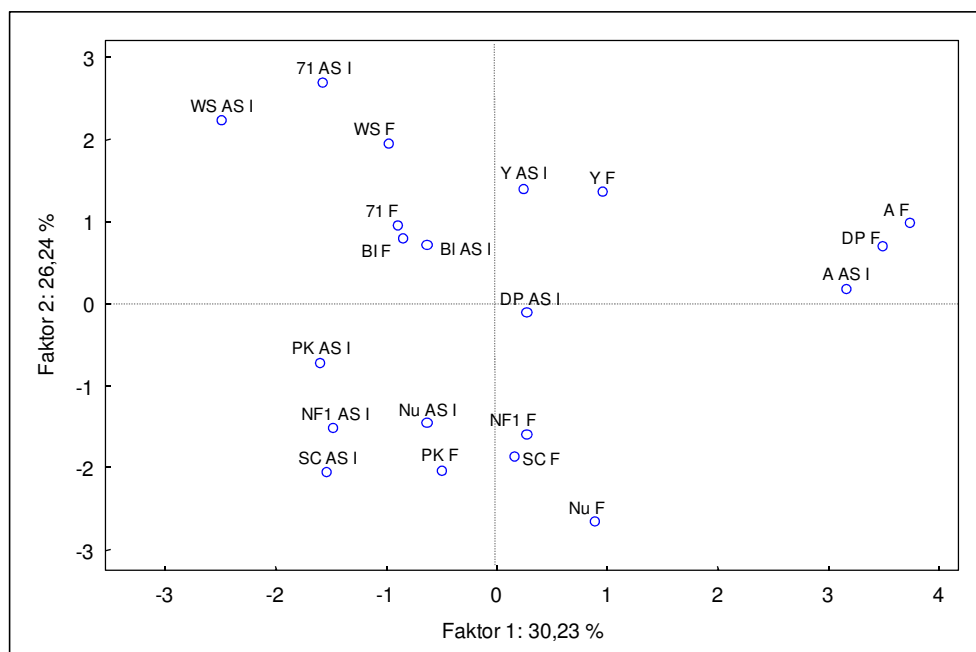


Abbildung 4-4-7: Hauptkomponentenanalyse der Mittelwerte der zehn Kulturmöhrengenotypen aus den Feldversuchen Krakow/Quedlinburg in den Jahren 2008/2009 (mit "F" gekennzeichnet) und denselben Genotypen aus dem Assoziationsversuch I (mit "AS I" gekennzeichnet)

In der Abbildung 4-4-7 ist eine Hauptkomponentenanalyse der Mittelwerte der zehn untersuchten Genotypen Kulturmöhren aus den Feldversuchen Krakow/Quedlinburg der Jahre 2008/09 mit denselben zehn Genotypen aus dem ersten Assoziationsversuch, welcher im Jahr 2008 im Gewächshaus durchgeführt wurde (AS I), aufgezeigt. Die Abkürzungen stehen für folgende Genotypen:

Tabelle 4-4-1: Untersuchte Genotypen in dem zweiortigen, zweijährigen Feldversuch mit ihren Abkürzungen für die statistische Verrechnung

Genotyp	Abkürzung	Farbe
White Satin	WS	weiß
Yellowstone	Y	gelb
710015	71	gelb
Nutired	Nu	rot
Santa Cruz	SC	orange
Nerac F1	NF1	orange
Deep Purple F1	DP	violett
Anthonina	A	violett
Blanche ½ longue des vosges	Bl	weiß
Pusa Kesar	PK	rot

Die Abkürzung „F“ steht in der Abbildung 4-4-7 für den Mittelwert aus den Genotypen, welche in den Feldversuchen 2008 und 2009 in Krakow und Quedlinburg angebaut wurden, während die Abkürzung „AS I“ für den Mittelwert aus drei Wiederholungen aus dem ersten Assoziationsversuch steht.

Durch den Vergleich der Carotinoid-, Polyacetylen- und Zuckerkonzentrationen in den zehn untersuchten Genotypen, welche in zwei Jahren an zwei unterschiedlichen Standorten gemessen wurden, mit den Ergebnissen, welche im Gewächshaus erzielt wurden, konnte, durch die Distanz zwischen den beiden „Anbaubedingungen“, die Stärke der beiden Einflussfaktoren Standort und Anbaujahr ermittelt werden. Wie der Abbildung 4-4-7 zu entnehmen ist, liegen die statistisch verrechneten Ergebnisse der einzelnen Genotypen, angebaut im Feld und im Gewächshaus, in den meisten Fällen recht dicht zusammen.

#### 4.5 Ontogeneseversuche I und II

##### 4.5.1 Ontogenese von Kulturmöhren am Beispiel der Sorten 'Nevis' und 'Rotin'

In den folgenden Abbildungen der Ontogenesestudie an Kulturpflanzen, durchgeführt an den beiden Sorten 'Nevis' und 'Rotin', sind die Carotinoid-, Polyacetylen und Zuckerkonzentrationen über einen Wachstumszeitraum von 16 Wochen zuzüglich zwei Wochen Wachstum in einer 6 °C kalten Vernalisationskammer und anschließender Akklimatisationsphase von einer Woche eingetragen. Für die Inhaltsstoffe, deren Konzentrationen am höchsten waren, sind Trendlinien eingefügt, die die Entwicklung dieser Inhaltsstoffe verdeutlichen sollen.

#### 4.5.1.1 Bildungszeitpunkte von Carotinoiden in den Sorten 'Nevis' und 'Rotin' während des Wachstumsprozesses

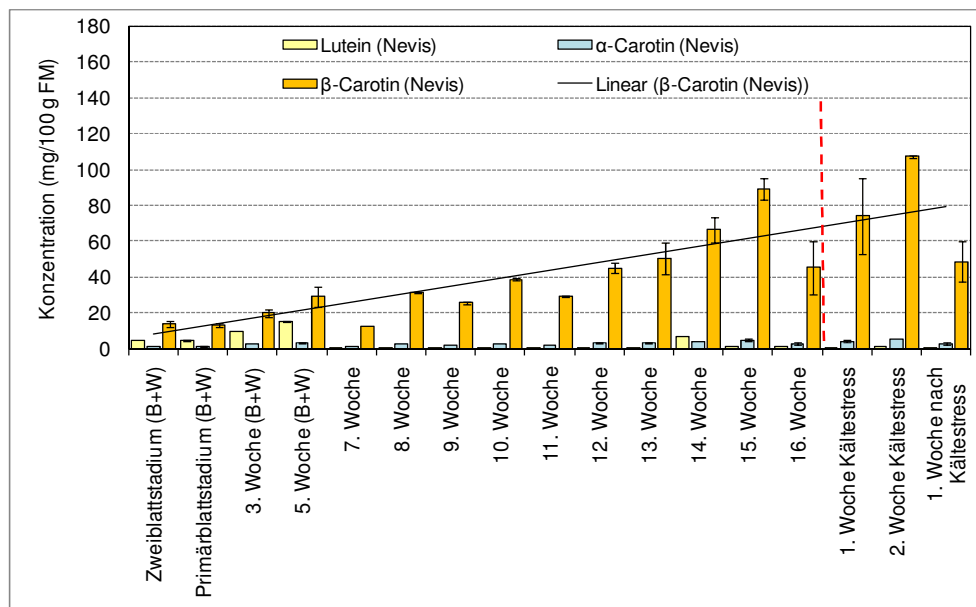


Abbildung 4-5-1: Gemittelte Carotinoidkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen der Sorte 'Nevis' für jede der 17 Erntestadien bei 19 Wochen Wachstumsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung

In der Abbildung 4-5-1 ist die Entwicklung der Carotinoidkonzentrationen während des Wachstumsprozesses der Kulturmöhrensorte 'Nevis' mit sich anschließendem Kältestress aufgeführt. Sehr deutlich ist eine kontinuierliche Zunahme des  $\beta$ -Carotins bis zur Vollreife in der 15. Woche zu beobachten. Die Konzentrationen des Luteins und des  $\alpha$ -Carotins liegen deutlich unter der des  $\beta$ -Carotins. Eine Konzentrationszunahme ist beim Lutein nur bis zur 5. Wachstumswoche zu erkennen, danach sind die Konzentrationen, bis auf die 14. Woche, nicht mehr „sichtbar“. Ähnlich verhält es sich mit dem  $\alpha$ -Carotin, dieses ist über den gesamten Wachstumsprozess in geringen Konzentrationen vorhanden. Auch die Ergebnisse des ersten Assoziationsversuchs bestätigen diese Beobachtung. Dort wurden für die Sorte 'Nevis'  $\alpha$ -Carotinkonzentrationen von 1,71 mg/100 g FM gemessen. Zu beachten ist außerdem das Abfallen der  $\beta$ -Carotinkonzentration nach der Vollreife in der 15. Woche sowie der langsame Anstieg während des induzierten Kältestresses und das erneute Abfallen der Konzentration nach der einwöchigen Akklimatisierungsphase. Bemerkenswert sind außerdem die teilweise sehr hohen Standardabweichungen beim  $\beta$ -Carotin zu den einzelnen Erntezeitpunkten bei fünf Einzelpflanzen je Genotyp.

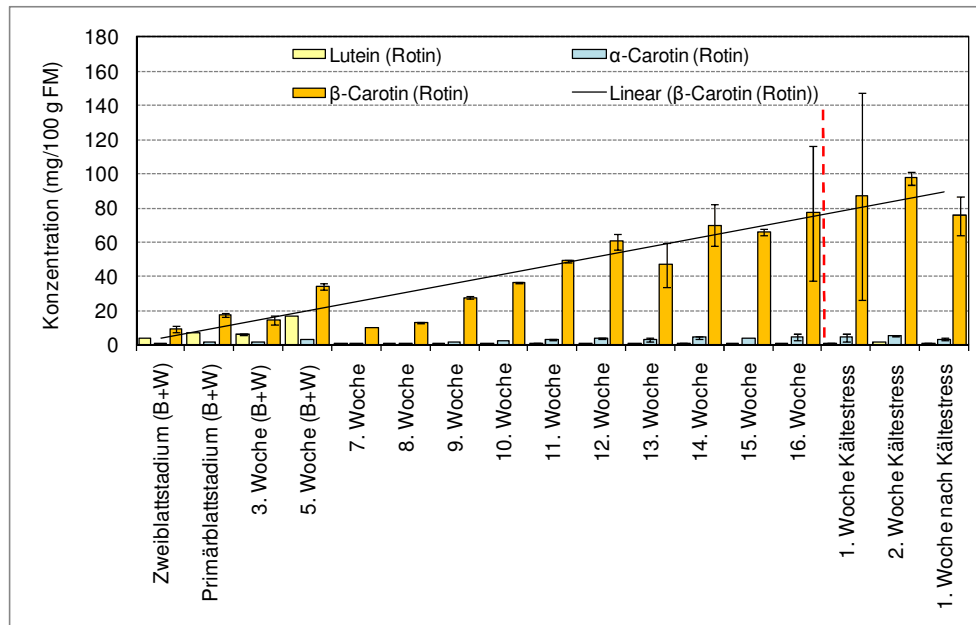


Abbildung 4-5-2: Gemittelte Carotinoidkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen der Sorte 'Rotin' für jede der 17 Erntestadien bei 19 Wochen Wachstumsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung

In der Abbildung 4-5-2 ist die Entwicklung der Carotinoidkonzentrationen während des Wachstumsprozesses der Kulturmöhrensorte 'Rotin' mit sich anschließendem Kältestress aufgeführt. Bei dieser Sorte ist sehr deutlich die kontinuierliche Zunahme des  $\beta$ -Carotins bis über das Vollreifestadium hinaus und innerhalb des induzierten Kältestresses zu beobachten. Einzig nach der Akklimatisierungswoche sinkt die  $\beta$ -Carotinkonzentration geringfügig ab. Auch zu Beginn des Karottenwachstums, nach der sechsten Wachstumswoche, durchläuft die  $\beta$ -Carotinkonzentration einen stärkeren Konzentrationsabfall. Dies ist durch die Umstellung von Blatt-Wurzel-Mischproben auf die Einzelpflanzenanalytik der Wurzel zu erklären. Die Konzentrationen des Luteins und des  $\alpha$ -Carotins liegen deutlich unter der des  $\beta$ -Carotins. Eine Konzentrationszunahme ist beim Lutein wiederum nur bis zur 5. Wachstumswoche zu beobachten, danach sind die Konzentrationen nicht mehr „sichtbar“. Ähnlich verhält es sich mit dem  $\alpha$ -Carotin, dieses ist über den gesamten Wachstumsprozess in geringen Konzentrationen erkennbar. Diese Erkenntnisse decken sich mit denen aus dem ersten Assoziationsversuch, bei diesem wurden für die Sorte 'Rotin' ebenfalls geringe  $\alpha$ -Carotinkonzentrationen festgestellt (3,08 mg/100 g FM). Beachtlich sind außerdem die teilweise sehr hohen Standardabweichungen beim  $\beta$ -Carotin zu den einzelnen Erntezeitpunkten bei fünf Einzelpflanzen je Genotyp, die in der 16. Und 17. Woche ganz besonders ausgeprägt sind.

#### 4.5.1.2 Bildungszeitpunkte von Polyacetylenen in den Sorten 'Nevis' und 'Rotin' während des Wachstumsprozesses

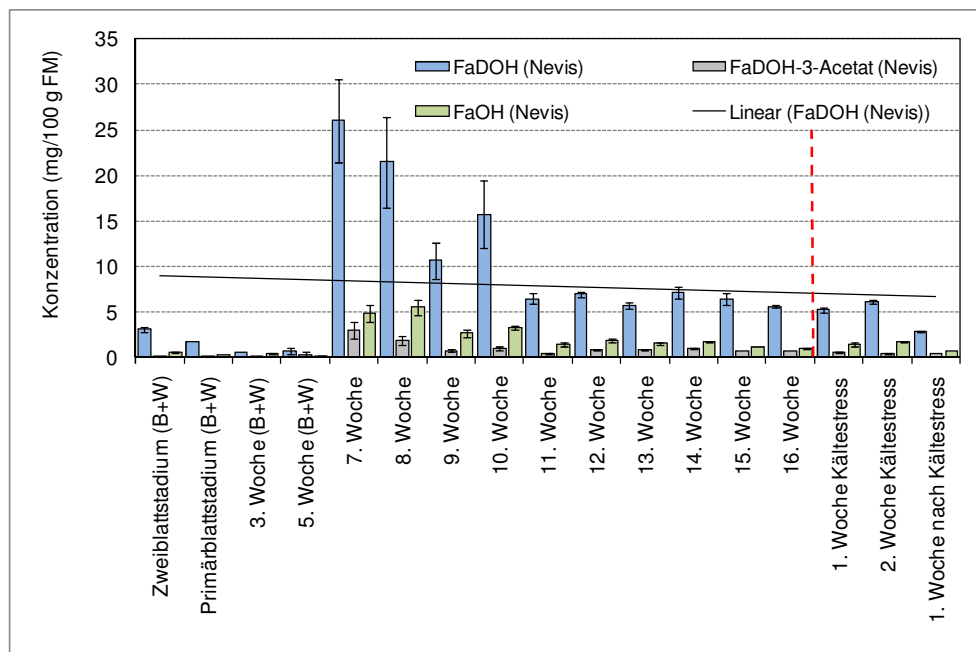


Abbildung 4-5-3: Gemittelte Polyacetylenkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen der Sorte 'Nevis' für jede der 17 Erntestadien bei 19 Wochen Wachstumsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung

In der Abbildung 4-5-3 sind die Polyacetylenkonzentrationen über die gesamte Wachstumsdauer der Kulturmöhrensorte 'Nevis' mit sich anschließendem zweiwöchigen Kältestress sowie einer Akklimatisationsphase von einer Woche dargestellt. Wie aus der Abbildung gut ersichtlich wird, waren zu den ersten vier Erntezeitpunkten, also in den ersten fünf Wochen, nur sehr geringe Polyacetylenkonzentrationen in den Wurzeln und Blättern vorhanden. Auffällig ist jedoch, dass der FaDOH-Gehalt sowohl im Keimblattstadium als auch im Primärblattstadium relativ hoch ist.

Der starke Anstieg der Polyacetylene, speziell von FaDOH ab der 7. Wachstumswoche und der sich anschließende Abfall der Konzentration ist mit der Umstellung von Blatt-Wurzel-Mischprobenanalytik auf Einzelpflanzenanalytik der Wurzel zu begründen. Auch ist aus der Abbildung erkennbar, dass der induzierte Kältestress keinen signifikanten Einfluss auf die Gehalte an Polyacetylenen hat.



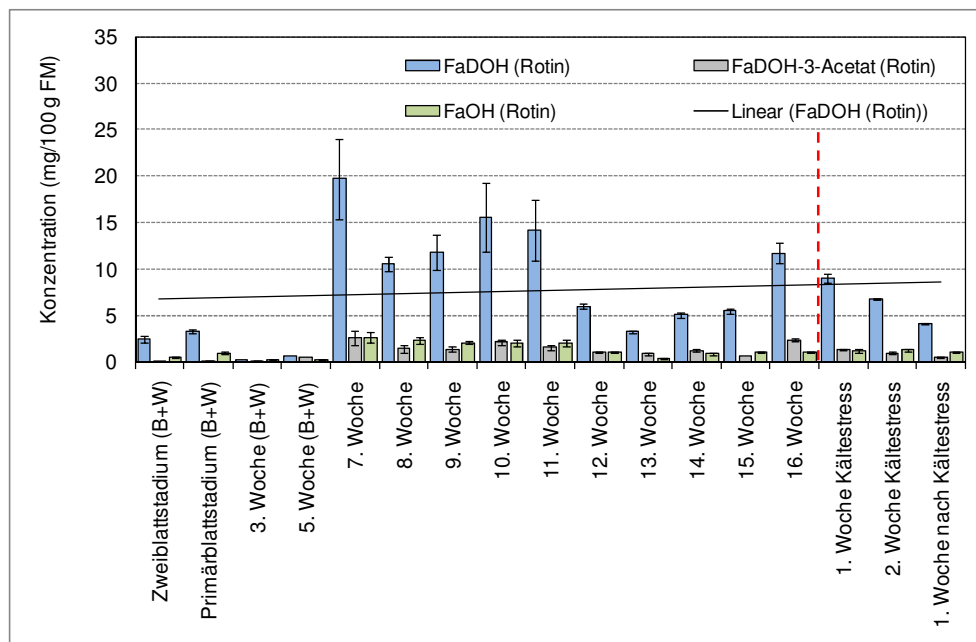


Abbildung 4-5-4: Gemittelte Polyacetylenkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen der Sorte 'Rotin' für jede der 17 Erntestadien bei 19 Wochen Wachstumsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung

In der Abbildung 4-5-4 sind die Polyacetylenkonzentrationen über die Wachstumsdauer der Kulturmöhrensorte 'Rotin' mit sich anschließendem zweiwöchigen Kältestress sowie einer Akklimatisationsphase von einer Woche dargestellt. Es ist ganz deutlich zu erkennen, dass zu Beginn des Wachstums die Polyacetylengehalte in geringen Konzentrationen in den Blättern und Wurzel der Karottenpflanzen enthalten sind und anschließend bis zur 7. Woche stark abnehmen.

Ab der 7. Woche nimmt die Polyacetylenkonzentration von allen drei Polyacetylenen, ganz besonders von FaDOH, sprunghaft zu und verläuft ab dort in Wellenform auf recht hohem Niveau, jedoch mit leicht ansteigender Tendenz bis zur Erntereife. Der Kältestress scheint keinen signifikanten Einfluss auf die Polyacetylengehalte zu haben, da die Konzentrationen in den Karottenwurzeln ab dem Stadium der Vollreife kontinuierlich abnehmen. Beachtlich ist die recht hohe FaDOH-Konzentration zum Zeitpunkt der Vollreife, welche bei etwa 12 mg/100 g FM liegt.

#### 4.5.1.3 Bildungszeitpunkte von Zuckern in den Sorten 'Nevis' und 'Rotin' während des Wachstumsprozesses

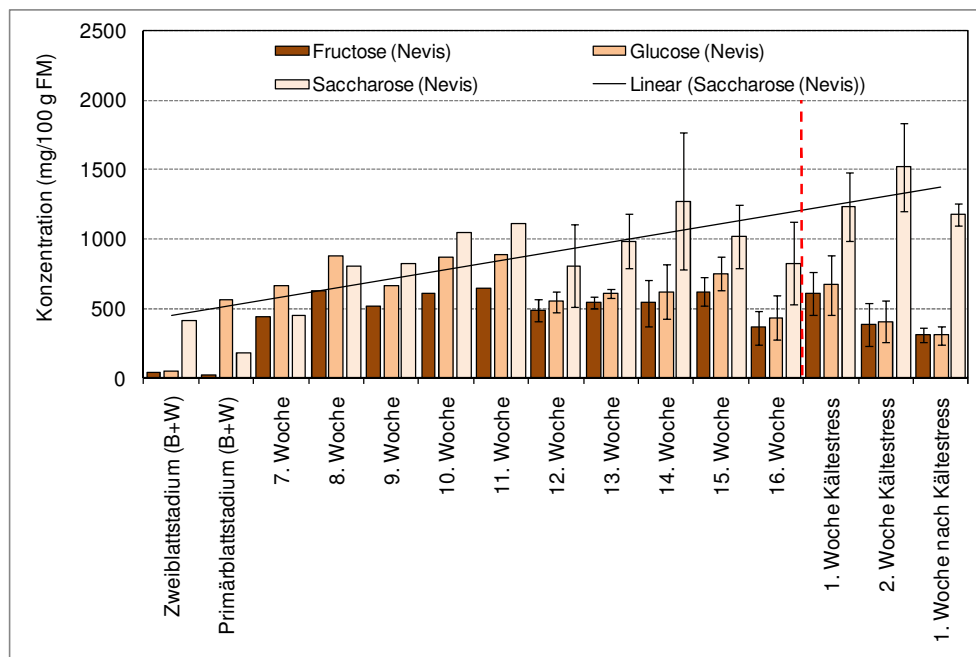


Abbildung 4-5-5: Gemittelte Zuckerkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen der Sorte 'Nevis' für jede der 17 Erntestadien bei 19 Wochen Wachstumsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung

In der Abbildung 4-5-5 sind die Konzentrationsverläufe der drei Hauptzucker der Karottensorte 'Nevis' über die Gesamtwachstumsdauer mit sich anschließendem zweiwöchigen Kältestress sowie einer Akklimatisationsphase von einer Woche dargestellt. In Bezug auf die Zuckerkonzentrationen in der Karotte ist deutlich zu erkennen, dass in den ersten 5 Wochen geringe Zuckerkonzentrationen mit den beiden Ausreißern Saccharose in der 3. Wachstumswoche und Glucose in der 5. Woche in den Blatt-Wurzel-Mischproben vorhanden sind. Ab der 7. Woche, also der Umstellung auf Einzelpflanzenanalytik der Karottenwurzel, nimmt der Zuckergehalt aller drei Zucker bis zur 11. Woche in der Tendenz zu. Ab dort gehen die Gehalte von Glucose und Fructose zugunsten des Saccharosegehalts zurück. Dieser steigt bis zur 14. Wachstumswoche an und nimmt dann wieder kontinuierlich ab. Durch den induzierten Kältestress nimmt die Saccharosekonzentration stark zu, während sie nach der Akklimatisationswoche wieder abnimmt. Zu beachten sind außerdem die teilweise sehr hohen Standardabweichungen zu den einzelnen Erntezeitpunkten innerhalb von fünf Einzelpflanzen.

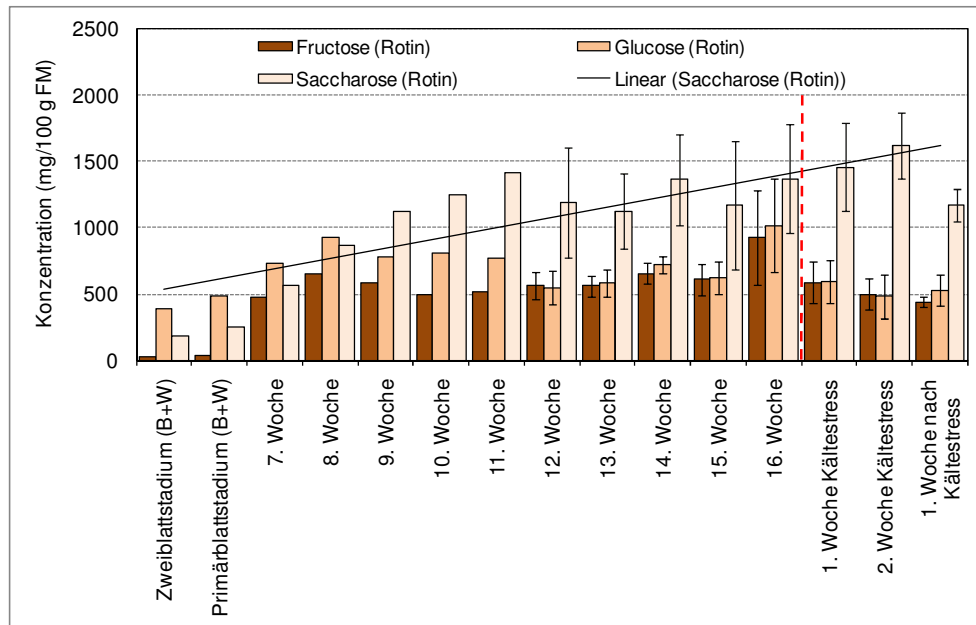


Abbildung 4-5-6: Gemittelte Zuckerkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen der Sorte 'Rotin' für jede der 17 Erntestadien bei 19 Wochen Wachstumsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung

In der Abbildung 4-5-6 sind die Konzentrationsverläufe der drei Hauptzucker der Karottensorte 'Rotin' über die Gesamtwachstumsdauer mit sich anschließendem zweiwöchigen Kältestress sowie einer Akklimatisationsphase von einer Woche dargestellt. Die Zuckerkonzentrationen sind von Beginn an relativ hoch. Sie nehmen bis zur 11. Woche kontinuierlich zu, während sie nach der 11. Wachstumswoche etwas einbrechen, um anschließend wieder kontinuierlich anzusteigen. Sowohl die Glucose- als auch die Fructosegehalte stabilisieren sich auf einem recht hohen Niveau, während die Saccharosekonzentrationen bis zur Vollreife stetig steigen. Auch durch den induzierten Kältestress wird diesem Trend kein Abbruch getan. Nach der Akklimatisierungswoche ist eine deutliche Abnahme der Saccharosekonzentration zu beobachten. Beachtlich ist die hohe Saccharosekonzentration zum Zeitpunkt der Vollreife sowie nach dem zweiwöchigen Kältestress, diese liegt bei ca. 1400 bzw. 1600 mg/100 g FM. Bemerkenswert sind außerdem die teilweise sehr hohen Standardabweichungen zu den einzelnen Erntezeitpunkten innerhalb von fünf Einzelpflanzen.

#### 4.5.1.4 Bildungszeitpunkte von Carotinoiden, Polyacetylenen und Zuckern in Karottenwurzel und Blatt bei 'Nevis' und 'Rotin'

Neben der Analytik auf Carotinoide, Polyacetylene und Zucker in den Karottenwurzeln wurde in der Ontogenesestudie der Kulturmöhren auch das Blattmaterial auf dieselben nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe untersucht. Zum Zwecke der Ermittlung einer Abhängigkeit zwischen

nicht-flüchtigen Inhaltsstoffen im Blatt und in der Wurzel wurde eine Korrelationsmatrix erstellt. Diese ist im Anhang aufgeführt, siehe Tabelle A-7-4, und zeigt ganz deutlich, dass es bei keinem Inhaltsstoff eine Korrelation zwischen den Konzentrationen im Blatt und in der Wurzel gibt.

Ebenfalls im Anhang sind die einzelnen Abbildungen zu der Korrelationsmatrix aufgeführt. Aus diesen ist sehr gut die fehlende Korrelation zwischen den Inhaltsstoffen im Blatt und in der Wurzel in Bezug auf Carotinoide, Polyacetylene und Zucker zu erkennen (Anhang A-7-15 bis A-7-32).

Werden die Polyacetylenkonzentrationen im Blatt im Verhältnis zu den Konzentrationen in den Wurzeln betrachtet, fällt besonders auf, dass zum einen die Blätter einen nahezu gleichhohen Gehalt an Falcarindiol-3-Acetat aufweisen wie die Wurzeln, zum anderen die beiden anderen Polyacetylene FaDOH und FaOH in den Blättern in deutlich geringeren Konzentrationen als in den Wurzeln vorliegen. Zu Beginn des Pflanzenwachstums entstehen in den Wurzeln deutlich erhöhte Polyacetylenkonzentrationen, welche im Laufe der Wurzelbildung bis kurz vor der Ernte, also dem Erreichen des Vollreifestadiums abnehmen (Abbildungen A-7-21 bis A-7-26 im Anhang).

Bei der Betrachtung der Carotinoid- und Zuckerkonzentrationen in den Wurzeln und Blättern fallen zum einen, wie bei der Betrachtung der Polyacetylenkonzentration, die identischen Konzentrationen zu den ersten vier Erntezeitpunkten auf; diese entstehen durch die Analyse von Blatt-Wurzel-Mischproben. Die Verwendung von Mischproben zu den ersten vier Erntezeitpunkten war aus Gründen der sehr geringen Biomassen von Blatt und Wurzeln und der schlechten Trennbarkeit derselbigen nicht zu vermeiden. Zum anderen sind in den folgenden Wachstumsstadien, sowohl bei der Sorte 'Nevis' als auch bei der Sorte 'Rotin', deutliche Konzentrationsunterschiede in den Blättern und Wurzeln ersichtlich, wie in den Abbildungen A-7-15 bis A-7-20 und A-7-27 bis A-7-32 im Anhang im Einzelnen aufgeführt ist. Auch in Bezug auf einen möglichen Einfluss des simulierten Kältestresses kann für die Carotinoid- und Zuckerkonzentrationen in den Wurzeln und Blättern keine Korrelation festgestellt werden.

#### 4.5.2 Ontogenese von Wildmöhren am Beispiel der Genotypen DAL 377/00-10 und GRCGGB 11057

In dem zweiten Ontogeneseversuch wurde die Bildung der nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe in den Wildmöhren am Beispiel der beiden Genotypen DAL 377/00-10 und GRCGGB 11057 untersucht. In der folgenden Abbildung der zweiten Ontogenesestudie sind die Carotinoid-

und Polyacetylenkonzentrationen über einen Wachstumszeitraum von 12 Wochen aufgetragen.

In allen folgenden Abbildungen zum zweiten Ontogeneseversuch (an Wildmöhren) sind für die Inhaltsstoffe, deren Konzentrationen am höchsten waren, Trendlinien eingefügt, die die Entwicklung dieser Inhaltsstoffe verdeutlichen sollen.

#### 4.5.2.1 Bildungszeitpunkte von Carotinoiden in den Genotypen DAL 377/00-10 und GRCGGB 11057 während des Wachstumsprozesses

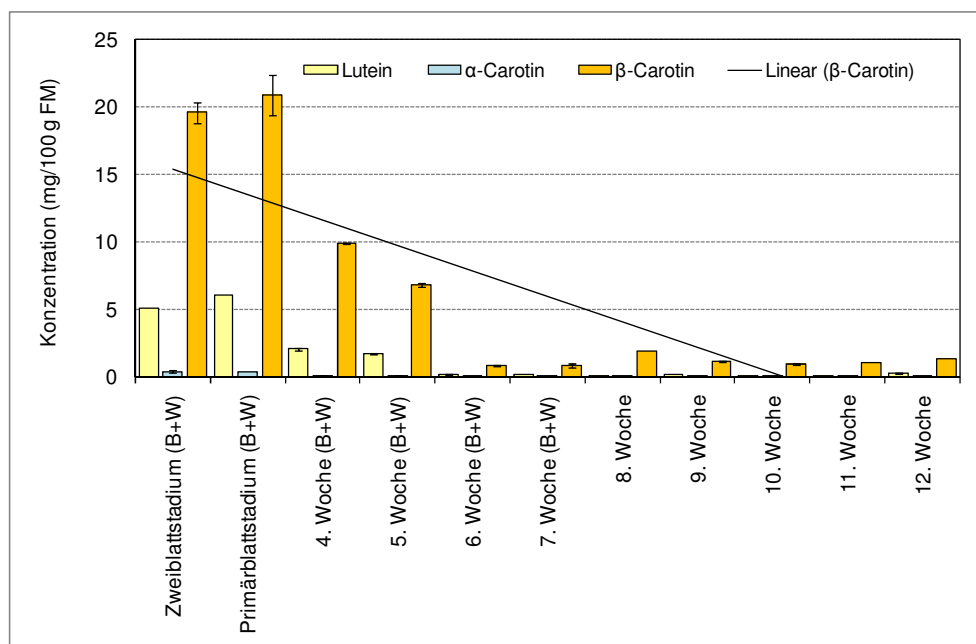


Abbildung 4-5-7: Gemittelte Carotinoidkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen (ab der 8. Wachstumswoche) des Wildmöhrengentyps DAL 377/00-10 für jede der 11 Ertestadien bei einer Wachstumsdauer von 12 Wochen

Aus der Abbildung 4-5-7 der Carotinoidkonzentrationen während des Gesamtwachstumsverlaufs für den Wildmöhrengentyp DAL 377/00-10 ist zu erkennen, dass besonders in den ersten fünf Wochen des Karottenwachstums hohe Carotinoidkonzentrationen nachgewiesen werden. Dies liegt vor allem daran, dass bis zu diesem Zeitpunkt Mischproben aus Blatt- und Wurzelmaterial analysiert wurden und somit die hohen Carotinoidgehalte in den Blättern deutlichen Einfluss auf den Gesamtcarotinoidgehalt dieser Mischproben haben. Ab der 5. Woche nehmen die Carotinoidgehalte deutlich ab. Dies liegt daran, dass zwar immer noch Mischproben aus Blatt und Wurzel analysiert wurden, jedoch die Wurzel deutlich Biomasse aufgebaut hat und somit einen größeren Einfluss auf den Gesamtcarotinoidgehalt hat. Ab der 8. Wachstumswoche wurde auf Einzelpflanzenanalytik der Karottenwurzel umgestellt. Dies zeigt sich deutlich in

den Carotinoidkonzentrationen, die, wie nicht anders bei Wildmöhren zu erwarten war, auf einem sehr niedrigen Niveau bleiben. Ausschließlich die  $\beta$ -Carotinkonzentrationen sind zu erkennen, während Lutein und  $\alpha$ -Carotin nicht oder nur in sehr geringen Konzentrationen vorhanden sind.

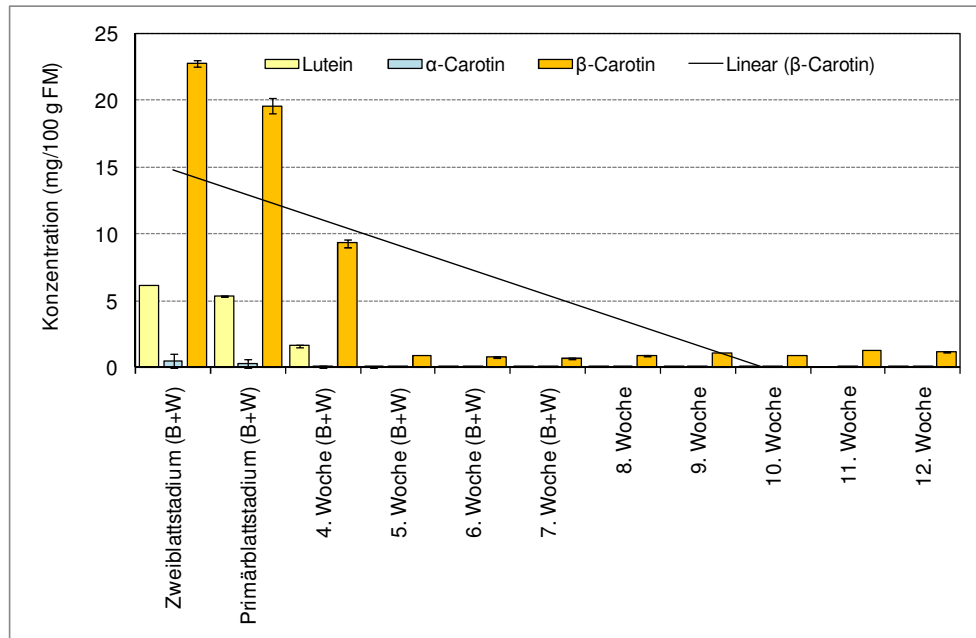


Abbildung 4-5-8: Gemittelte Carotinoidkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen (ab der 8. Wachstumswoche) des Wildmöhrengenotyps GRGGB 11057 für jede der 11 Erntestadien bei einer Wachstumsdauer von 12 Wochen

In der Abbildung 4-5-8 sind die Carotinoidgehalte während des gesamten Wachstums des Wildmöhrengenotyps GRGGB 11057 aufgeführt. Aus dieser Abbildung lassen sich analog zum Genotyp DAL 377/00-10 hohe Carotinoidkonzentrationen in den ersten 4 Wochen des Karottenwachstums beobachten. Auch hier sind die Carotinoidkonzentrationen aus den Blättern verantwortlich für die hohen Konzentrationen in den Wurzel-Blatt-Mischproben. Ab der 5. Wachstumswoche nehmen die Carotinoidkonzentrationen deutlich ab und bleiben bis zur vollständigen Reife der Wildmöhren auf einem konstant niedrigen Niveau. Die Luteinkonzentrationen sind in den ersten 4 Wachstumswochen recht hoch, diese stammen wiederum aus dem Blattmaterial und nehmen stark ab, bis sie ab der 5. Woche nicht mehr sichtbar sind. Dasselbe nur in deutlich geringeren Konzentrationsbereichen, gilt für die  $\alpha$ -Carotinkonzentrationen. Diese sind schon ab der 4. Woche nicht mehr in erwähnenswerten Konzentrationen vorhanden.

#### 4.5.2.2 Bildungszeitpunkte von Polyacetylenen in den Genotypen DAL 377/00-10 und GRCGGB 11057 während des Wachstumsprozesses

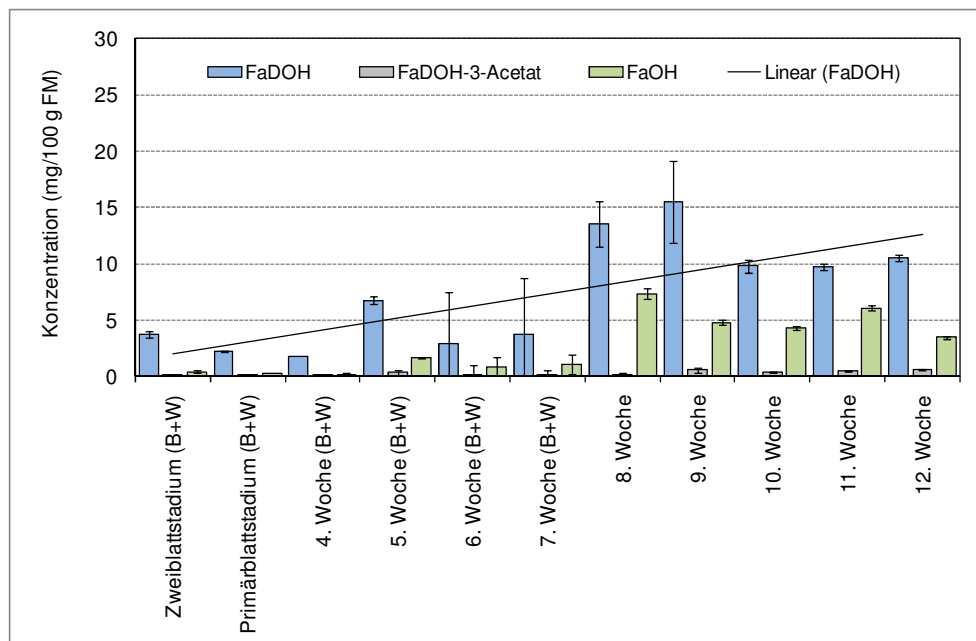


Abbildung 4-5-9: Gemittelte Polyacetylenkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen (ab der 8. Wachstumswoche) des Wildmöhrengenotyps DAL 377/00-10 für jede der 11 Erntestadien bei einer Wachstumsdauer von 12 Wochen

Wie der Abbildung 4-5-9, welche die Polyacetylenkonzentrationen in dem Wildmöhrengenotyp DAL 377/00-10 über das gesamte Wachstum darstellt, zu entnehmen ist, steigen die Polyacetylenkonzentrationen tendenziell bis zur Vollreife an. So ist besonders die FaDOH-Konzentration zu Beginn des Karottenwachstums relativ hoch, nimmt bis zur 5. Woche kontinuierlich ab, steigert sich in dieser deutlich, um anschließend wieder sehr stark abzufallen und schließlich bis zur 9. Wachstumswoche stark anzusteigen. Ab dieser stabilisiert sich die FaDOH-Konzentration auf einem etwas niedrigeren Niveau bis zur finalen Ernte in der 12. Woche. Ebenso wie beim Falcarindiol verhalten sich die Konzentrationen des Falcarinol. Auch diese steigen sprunghaft in der 8. Wachstumswoche an und sinken bis zur finalen Ernte leicht ab. Das Falcarindiol-3-Acetat ist nur in verschwindend geringen Konzentrationen zu finden. Erstaunlich ist außerdem die relativ geringe Falcarindiolkonzentration zum Zeitpunkt der finalen Ernte. Diese liegt mit ca. 11 mg/100 g FM deutlich niedriger als die FaDOH-Konzentration in der Kulturmöhre 'Rotin'.

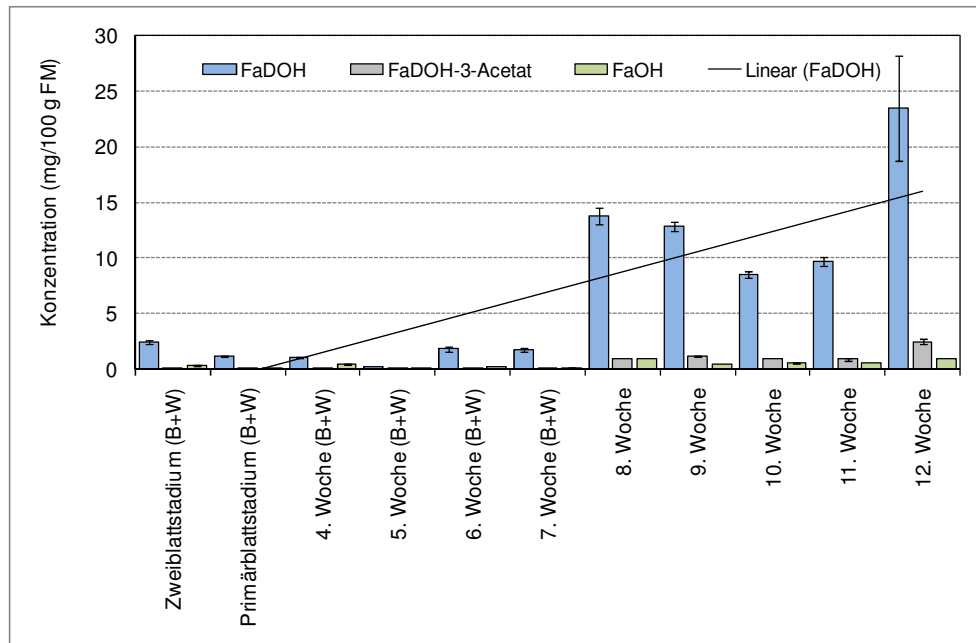


Abbildung 4-5-10: Gemittelte Polyacetylenkonzentrationen in mg/100 g FM aus fünf Einzelpflanzen (ab der 8. Wachstumswoche) des Wildmöhrengenotyps GRGGB 11057 für jede der 11 Erntestadien bei einer Wachstumsdauer von 12 Wochen

In der Abbildung 4-5-10 sind die Polyacetylengehalte während des gesamten Wachstums des Wildmöhrengenotyps GRGGB 11057 aufgeführt. Falcarindiol weist zu Wachstumsbeginn eine geringe Konzentration auf. In der achten Wachstumswoche, in welcher von Mischproben aus Blatt- und Wurzelmaterial auf Einzelpflanzenanalytik der Karottenwurzel umgestellt wurde, steigt der Gehalt sprunghaft an. Von diesem, mit einer Konzentration von ca. 14 mg/100 g FM recht hohen Niveau steigern sich die FaDOH-Konzentrationen bis zur letzten Ernte in der 12. Woche auf einen Gehalt von ca. 24 mg/100 g FM. Zu beachten ist die Standardabweichung im letzten Wachstumsstadium, welche auf große Konzentrationsunterschiede in den fünf Einzelpflanzen zurückzuführen ist und in den vorherigen Wachstumsstadien nicht zu finden war. Die Konzentrationen von FaOH und FaDOH-3-Acetat sind bis zur 8. Wachstumswoche verschwindend gering, während sie ab dieser geringfügig ansteigen und zum letzten Erntetermin noch etwas ansteigen.



## 5 Diskussion

### 5.1 Methodenentwicklung

Wie unter Punkt 3.4.3 beschrieben, sind zurzeit in der Literatur nur Methoden zur getrennten Extraktion von Carotinoiden und Polyacetylenen aus der Karottenmatrix beschrieben. Es ist bisher keine simultane Extraktion für diese beiden chemischen Stoffe bekannt. Die Konzeption der Versuche führte aufgrund der erforderlichen Einzelpflanzenanalytik zu immensen Probenmengen. Nur so konnten valide Daten generiert werden, um fundierte Aussagen sowohl über die Variation der Inhaltsstoffe in 100 Genotypen Kulturmöhren als auch in 104 Genotypen Wildmöhren treffen zu können. Auch konnte eine verlässliche Basis für Rückschlüsse des Standorteinflusses auf das Inhaltsstoffspektrum in Möhren und dessen Variationen geschaffen werden und die Bildungszeitpunkte von Carotinoiden und Polyacetylenen in zwei Sorten Kulturmöhren genauer bestimmt werden. Um die Analyse der Probenmengen mit den vorhandenen Ressourcen in der erforderlichen Zeitnähe zur Ernte bewältigen zu können, war es notwendig den sehr aufwändigen Prozess der Probenaufarbeitung zu beschleunigen. Ziel war es darüber hinaus, neben den Faktoren Zeit und Ressourcen den menschlichen Fehlerfaktor zu minimieren. Bei der gleichzeitigen Ernte größerer Probenmengen ist es bei der Anwendung bekannter Methoden nur mit erheblichem Personaleinsatz möglich, die Proben weitgehend gleichartig und zeitnah ohne Verluste zu bearbeiten und zu analysieren. Eine zeitliche Streckung der Aufarbeitung und Analysen und die damit verbundenen langen Standzeiten des Probenmaterials bergen die Gefahr eines nicht verlässlich quantifizierbaren Abbaus der zu untersuchenden Inhaltsstoffe infolge längerer Lagerung.

Bei der Ermittlung der den Anforderungen genügenden ASE-Methode, basierend auf der Methode von Breithaupt aus dem Jahr 2004 [Breithaupt, 2004], zeigte sich, dass noch ein Optimierungsbedarf der Methode für die Carotinoidextraktion bestand. Gleichzeitig wurde eine ASE-Methode für die Extraktion der Polyacetylene aus gefriergetrocknetem Karottenpulver entwickelt. Aus Vorversuchen zur Aufbereitung des Probenmaterials ergab sich die Erkenntnis, dass aus gefriergetrocknetem Pulver im Vergleich zu Saft oder Frischmaterial zum einen deutlich mehr Carotinoide und Polyacetylene herausgelöst werden konnten, zum anderen das gefriergetrocknete Pulver durch die Eigenschaften des Pulvers und dessen guter Durchmischbarkeit die repräsentativste Mischprobe aus dem jeweiligen Ausgangsmaterial darstellte. Überdies war gefriergetrocknetes Pulver sehr gut zu lagern und

führte durch die Gefriertrocknung zu einer Reduktion des  $a_w$ -Wertes, was wiederum potenziell die Senkung der Enzymaktivität zur Folge hat.

Der Vergleich der Ergebnisse der Extraktionen nach der hier entwickelten ASE-Methode mit denen, die aufgrund der in der Literatur beschriebenen gängigen Extraktionsmethoden zu erreichen waren, zeigte eine deutliche Überlegenheit der hier angewandten Methode. Es konnten deutlich mehr Carotinoide und Polyacetylene aus den Proben herausgelöst werden, als dies in herkömmlicher Weise möglich war. Hinsichtlich der Carotinoidextraktionen war dies nicht weiter verwunderlich, da die ASE-Methode einerseits mit der SPE- und der Soxhlet-Methode andererseits verglichen wurde. Bei der SPE-Methode werden die Carotinoide ausschließlich aus dem Karottensaft herausgelöst, während der Trester verworfen wird. In diesem sind jedoch, an Proteine gebunden, noch Carotinoide vorhanden, welche von der Extraktion von vornherein nicht erfasst werden. Bei der Soxhlet-Extraktion wird versucht, mit kondensiertem n-Hexan Carotinoide aus der gefriergetrockneten Karottenmatrix herauszulösen. Da jedoch das n-Hexan mit ca. 68 °C auf das Karottenpulver trifft, ist davon auszugehen, dass dabei ein Teil der hitzelabilen Carotinoide zerfällt. Aufgrund der großen Probenmenge stand einer Soxhlet-Extraktion außerdem entgegen, dass sich der Extraktionsprozess für eine Probe über 2 Stunden hinzieht. Eine parallele Extraktion von mehreren Proben mit mehreren Soxhlet-Apparaturen gleichzeitig birgt die Gefahr unterschiedlicher Extraktionsergebnisse allein infolge kleiner Unterschiede in den Soxhlet-Apparaturen. Um dadurch mögliche Analysefehler zu minimieren, wären für die gleichzeitige Aufarbeitung der Proben baugleiche und kalibrierte Soxhlet-Apparaturen erforderlich gewesen.

Bei dem Vergleich der Ergebnisse nach Extraktion der Polyacetylene mittels der hier entwickelten ASE-Methode mit den Ergebnissen, die mit den Methoden der SPE und der Soxhlet-Extraktion erreicht wurden, zeigte sich, dass die ASE-Methode auch hier die deutlich besseren Extraktionsergebnisse lieferte. Bei der Betrachtung der Chromatogramme der Extrakte fällt auf, dass bei der Soxhlet-Extraktion die Polyacetylene FaOH und FaDOH detektiert werden konnten, während bei Extrakten mittels SPE sich ausschließlich FaOH zeigte. Der fehlende Nachweis von FaDOH-3-Acetat in gefriergetrocknetem Wildmöhrenpulver nach einer Soxhlet-Henkel-Extraktion beruht wahrscheinlich darauf, dass die Probeneinwaagen bei allen drei Extraktionsmethoden zum Zweck der besseren Vergleichbarkeit auf den Wert von 5 g Frischgewicht, was einer Einwaage von 0,5 g gefriergetrocknetem Pulver bei den Kulturmöhren entspricht, festgesetzt wurde und eine solch geringe Probenmenge für die Extraktionen von Polyacetylenen nach der Soxhlet-Henkel Methode nicht ausreicht. Denn die in der Literatur beschriebenen Analysen von Möhren auf Polyacetylene, die gegenwärtig größtenteils nach Soxhlet-Henkel-Extraktionen

durchgeführt werden [Miladi et al., 2008; Schinkovitz et al., 2008], geben teilweise auch Gehalte von FaDOH-3-Acetat an. Die Extraktion von Polyacetylenen nach Soxhlet-Henkel erfasst mithin grundsätzlich auch das FaDOH-3-Acetat.

Die im Vergleich der Lösungsmittelkombinationen beste Eignung eines Gemisches aus Essigsäureethylester, Petrolether und Methanol (1:1:1; v/v/v) für die Extraktion sowohl der Carotinoide als auch der Polyacetylene dürfte darauf zurückzuführen sein, dass es sich um eine Mischung aus polaren und unpolaren Lösungsmitteln handelt, die das gesamte Polaritätsspektrum abdeckt.

Die Ergebnisse der Versuche zur Reproduzierbarkeit von Extraktionsergebnissen bei der entwickelten ASE-Methode zeigten für Carotinoide und Polyacetylene deutlich unterschiedliche Werte. Die Extraktionen von Polyacetylenen wiesen mit 5 bis 7 % eine relativ geringe Schwankungsbreite auf, die sich angesichts der geringen Probenmengen im Rahmen der unvermeidlichen Messtoleranzen bewegte. Hinsichtlich der Carotinoide war die prozentuale Schwankungsbreite mit Werten zwischen 10 und 17 % demgegenüber deutlich größer. Dies war, wie sich bei näherer Betrachtung herausstellte, darauf zurückzuführen, dass die Carotinoidextrakte ausschließlich aus Kulturmöhren stammten und sich aufgrund der hohen Zuckergehalte der Kulturmöhren im Laufe der Aufkonzentration der Extrakte im Rotations-Vakuum-Konzentrator an den Wandungen der braunen Probengefäße Anhaftungen bildeten. Diese offenbar auch mit Carotinoiden versetzten Anhaftungen bei der sich anschließenden Weiterbearbeitung mit frischem Lösungsmittel und Ultraschallbad von den Wandungen zu lösen, war nicht immer zu erreichen. Durch diese Verluste waren bei der Analytik der Proben auf Carotinoide größere Schwankungen als bei den Polyacetylenen festzustellen. Für die Versuche zur Reproduzierbarkeit der ASE in Bezug auf die Polyacetylene wurde wegen der darin enthaltenen hohen Polyacetylenkonzentrationen ausschließlich Probenmaterial von Wildmöhren verwendet. Aufgrund sehr geringer Zuckerkonzentrationen in diesen Proben traten Probleme wegen Anhaftungen von Extrakten in Probengefäßen nicht auf.

Beim Einsatz der hier entwickelten Extraktionsmethode für die Analytik von Carotinoiden in Kulturmöhren musste infolgedessen nach der Einengung der Proben und bei der anschließenden Überführung in graduierte Probenröhrchen in besonderem Maße auf die vollständige Lösung der Extrakte aus den Auffanggefäßen geachtet werden. Bei den Analysen für die Versuche wurde hierauf ein besonders Augenmerk gerichtet und dadurch versucht, die darauf basierenden Ungenauigkeiten zu minimieren.

Im Ergebnis können daher sowohl für die Analytik der Polyacetylene als auch für die Carotinoidanalytik aus der Probenaufarbeitung resultierende Schwankungen der Extraktionsgehalte vernachlässigt werden.

Aus den Ergebnissen zur Berechnung der in den Proben verbleibenden Restgehalte an Carotinoiden und Polyacetylenen ist zu ersehen, dass die entwickelte ASE-Methode, wie nicht anders zu erwarten, die Carotinoide und Polyacetylene nicht annähernd vollständig mit der ersten Extraktion aus dem gefriergetrockneten Karottenpulver herauslösen kann. Die Unterschiede des Umfangs der Restextrakte zwischen Wild- und Kulturmöhren sind bei den Polyacetylenen durch die höheren Polyacetylgehalte in den Wildmöhren zu erklären. Bei ihnen mussten größere Mengen Polyacetylene in der gleichen Extraktionszeit wie bei den Kulturmöhren herausgelöst werden, sodass die Aufnahmefähigkeit der Lösungsmittel eher nachließ und daher auch mehr Polyacetylene in der Probe verblieben. Simultan verhielt sich das Lösungsmittelgemisch bei der Extraktion der Carotinoide. Dadurch sind die deutlich höheren Restkonzentrationen an Carotinoiden in den Kulturmöhren gegenüber den Wildmöhren zu erklären.

Bei einem Blick in die Literatur ergibt sich, dass bei den beschriebenen ASE-Methoden zur Extraktion von Carotinoiden oder Polyacetylenen [Breithaupt, 2004; Pferschy-Wenzig et al., 2009] ausschließlich eine einzige (erste) Extraktion mit der ASE durchgeführt wurde. Über in den Proben verbliebene Restkonzentrationen an Carotinoiden bzw. Polyacetylenen wurde allerdings nicht berichtet. Auch bei den übrigen in der Literatur beschriebenen Extraktionsmethoden finden sich keine Angaben über restlose Extraktionen oder Restkonzentrationen im Probenmaterial nach den Extraktionen. Um die Vergleichbarkeit der mit den vorliegenden Untersuchungen gewonnenen Ergebnisse mit den in der Literatur beschriebenen Werten zu wahren, wurden die ermittelten Restgehalte nach einer ersten Extraktion mittels der hier angewandten ASE-Methode nicht als Korrekturfaktoren in die Berechnung der absoluten, auf das Frischgewicht der Proben bezogenen Konzentrationen mit einbezogen. Gegen eine Einbeziehung eines generellen Korrekturfaktors für die von der Extraktion nicht erfassten, in den Proben verbleibenden Restgehalte spricht vor allem, dass ein solcher Faktor nicht die konkreten Werte für jede analysierte Probe wiedergibt, sondern einen aus den Versuchen an drei Genotypen gewonnenen Durchschnittswert darstellt. Gleichwohl kann für die Beurteilung der realen Gehalte von Carotinoiden und Polyacetylenen in den untersuchten Karotten nicht nur linear von in den Ergebnistabellen wiedergegebenen Werten ausgegangen werden. Vielmehr muss berücksichtigt werden, dass Korrekturfaktoren für nicht erfasste Restkonzentrationen in die Berechnungen mit einfließen und die ermittelten Konzentrationen entsprechend erhöht werden müssen. Als Anhalt für die Größenordnung

der Korrekturfaktoren können die hier im Zuge der Methodenentwicklung festgestellten Werte für Restkonzentrationen genommen werden.

#### 5.1.1 Aufkonzentration der Proben durch den Rotations-Vakuum-Konzentrator

Die nach der Extraktion mittels ASE folgende Einengung der Proben mit einem Rotations-Vakuum-Konzentrator fügt sich passgenau in den Fluss einer automatisierten und beschleunigten Probenaufarbeitung ein. Dafür können die gewonnenen Extraktlösungen in den Auffanggefäßen verbleiben, was Ressourcen spart und menschliche Fehlerquellen beim Umfüllen vermeidet. Der Gefahr eines nicht kontrollier- und messbaren Abbaus der Zielsubstanzen kann durch auf die Lösungsmittel und Zielsubstanzen optimal zugeschnittene Temperaturwahl und Dauer des Vorgangs begegnet werden. Die untersuchten Alternativen dazu stellen sich sämtlich als aufwändiger und fehleranfälliger dar.

Der sich der Extraktion durch die ASE anschließende Schritt der Probenaufkonzentration wurde durch die Wahl eines Rotations-Vakuum-Konzentrator deutlich stärker automatisiert als es mit den „üblichen“ Methoden möglich gewesen wäre. So sind die Verfahren des Rotationsverdampfers und das der Probeneinengung durch Stickstoff deutlich zeit- und kostenintensiver. Beide Verfahren benötigen die ständige Aufsicht eines Mitarbeiters, im Fall der Stickstoffverdampfung sind große Mengen an Stickstoff nötig. Bei der sehr verbreiteten Nutzung des Rotationsverdampfers werden die Extrakte zusätzlich bis zur Trockne eingengt und anschließend im Fließmittel der HPLC-Anlage aufgenommen. Durch dieses Einengen bis zur Trockne wird den Substanzen die natürliche Hydrathülle genommen und somit auch der Schutz vor Oxidationsreaktionen durch Luftsauerstoff. Aus diesem Grund darf der angewendete Aufkonzentrationsschritt nicht bis zur vollständigen Trockne durchgeführt werden. Durch die Verwendung des Rotations-Vakuum-Konzentrator können, wie schon angesprochen, sechs Proben simultan eingengt werden, ohne dass Stickstoff oder eine Beaufsichtigung notwendig ist. Außerdem ist es möglich, durch entsprechende Erfahrungswerte die Laufzeit des Gerätes auf eine für die Proben optimale Zeit einzustellen, sodass die, wie in diesem Fall, gewünschte Menge von ca. 2 ml in den Auffanggläsern aus der ASE, welche durch einen speziellen Einsatz direkt in den Rotations-Vakuum-Konzentrator eingesetzt werden können, verbleibt. Durch den speziellen Einsatz für den Rotations-Vakuum-Konzentrator war es möglich, dass die Probengläschen aus der ASE-200 exakt in die Aussparungen des Rotors hineinpassten, hierdurch konnte neben der Einsparung eines weiteren Arbeitsschrittes, dem Umfüllen der Proben, auch eine potenzielle Fehlerquelle, welche durch Verschütten der Probe oder das Zurückbleiben von Probenmaterial in dem Probengläschen entstehen könnte, eliminiert werden.

### 5.1.2 HPLC-Methoden zum Nachweis von Carotinoiden und Polyacetylenen

Die Optimierung der Analysen bei der Detektion mittels HPLC hatte in erster Linie die Beschleunigung des Prozesses zum Ziel. Die Auswertung der Chromatogramme ergab eine saubere Trennung der Peaks sowohl bei den Carotinoiden als auch bei den Polyacetylenen. Außerdem führte die Beschleunigung nicht zu einer merklichen Verschlechterung der maximalen prozentualen Standardabweichungen, die mit Werten für Lutein von 0,27 %, für  $\alpha$ -Carotin mit 0,46 %, für  $\beta$ -Carotin mit 0,19 % und für Lycopin mit 2,19 % sehr gering ausfielen. Die Standardabweichungen bei den Werten für Polyacetylene (FaOH mit 2,47 %, FaDOH mit 1,52 % und FaDOH-3-Acetat mit 3,14 %) fielen demgegenüber nur geringfügig höher aus. Diese im Rahmen der Messtoleranzen liegenden Werte für 10 Injektionen aus einem Vial bestätigten, dass die Optimierung keinen merklichen Einfluss auf die Messergebnisse hatte. Die Abweichungen konnten daher bei der weiteren Betrachtung vernachlässigt werden.

Durch die deutliche Beschleunigung der HPLC-Messungen bei einer gleichzeitig scharfen Trennung der Zielsubstanzen war eine effizientere Analysemethode gefunden, die insbesondere durch die Beschleunigung Zeit und Ressourcen (Lösungsmittel) sparte. Sie erhöhte die Analysekapazitäten durch schnellere Bearbeitung der einzelnen Proben in erheblichem Ausmaß. Für die hier erforderliche umfängliche Analytik stellte sich die Optimierung als geeignetes Mittel dar.

### 5.1.3 Validierung der entwickelten ASE-Methode

Die in zeitlicher Nähe und mit sehr ähnlichen Methoden von Pferschy-Wenzig et al. zur Konzentration von FaOH in der Kulturmöhre 'Nerac F1' gewonnenen Werte boten die Möglichkeit zum unmittelbaren Vergleich der Ausbeuten bei zwei ähnlichen Extraktionsmethoden aus der identischen Kulturmöhrensorte. Die im Ergebnis festgestellten Unterschiede der Gehalte lagen im Bereich der Analysetoleranzen (7,07 %). Damit bestätigte sich, dass die Extraktion von FaOH aus Karottenmaterial mittels ASE nach der hier entwickelten Methode unter der gleichzeitigen Extraktion von Carotinoiden nicht leidet. Eine gleichzeitige Extraktion von Polyacetylenen und Carotinoiden mit der hier entwickelten ASE-Methode ist im Verhältnis zur Einzelextraktion nicht weniger ergiebig und bei einer auf hohe Durchsätze ausgerichteten Analytik mit demselben Grad an Verlässlichkeit und Vergleichbarkeit wie die für Polyacetylene und Carotinoide unabhängig voneinander vorgenommenen Extraktionen einsetzbar. Allerdings bedarf es bei gleichzeitiger Extraktion nur des halben Aufwandes an Zeit und Ressourcen.

Die im Zuge der hier durchgeführten Analysen auf Polyacetylene entwickelten Umrechnungsfaktoren zur Ermittlung des Gehaltes je 100 g Frischmasse wurden bestätigt. Denn die Konzentrationswerte für FaOH, die hier nach exakter Versuchsdurchführung, wie bei Pferschy-Wenzig beschrieben, ermittelt und mit den eigenen Umrechnungsfaktoren errechnet wurden, stimmten mit den von Pferschy-Wenzig publizierten Werten nahezu vollständig überein. Umrechnungsfehler, die die ermittelten Ergebnisse verfälschen könnten, können für die weitere Betrachtung mithin als ausgeschlossen angenommen werden.

#### 5.1.4 Tiefkühlagerung

Aus den unter Punkt 4.1.1 beschriebenen Ergebnissen der Lagerstabilität von gefriergetrocknetem Karottenpulver in Bezug auf die Carotinoid- und Polyacetylenkonzentrationen ist ersichtlich, dass die Carotinoide unter den gewählten Bedingungen deutlich lagerstabiler sind als die Polyacetylene. Während es empfehlenswert ist die Carotinoidanalytik, einschließlich etwaiger Wiederholungen, spätestens vier Monate nach der Vermahlung des Probenmaterials abgeschlossen zu haben, da ansonsten das Risiko von Konzentrationsschwankungen und damit einer Verfälschung der Analyseergebnisse steigt, finden sich bei den Polyacetylenen deutliche Konzentrationsschwankungen schon früher. Bei diesen ist es somit ratsam, die Analysen auf Polyacetylene spätestens drei Monate nach der Vermahlung des gefriergetrockneten Probenmaterials abgeschlossen zu haben, da es sonst zu deutlichem Abbau der Polyacetylene im Material kommt und somit die Ergebnisse stark verfälscht werden können.

Diese Empfehlung deckt sich mit den Ergebnissen von Kreutzmann et al. 2007(b) zum Einfluss der Tiefkühlagerung auf die Veränderung der Polyacetylengehalte. Er kam zu dem Schluss, dass die Langzeitlagerung einen großen Einfluss auf die Konzentration von Falcarindiol hat. Seine Versuche zeigten, dass nach 8 Monaten Tiefkühlagerung sowohl bei geschredderten Karotten als auch bei Karottensticks der Gehalt von Falcarindiol um 80 % reduziert war. Die ermittelten Werte nach viermonatiger Lagerung wurden aufgrund der genetischen Variabilität des Probenmaterials als nicht valide verworfen [Kreutzmann et al., 2007(b)]. Im Unterschied zur konkreten Bestimmung der Abbauraten von Polyacetylenen in gefrorenem Karottenfrischmaterial dienten die Gefrierversuche an gefriergetrocknetem Karottenpulver der Bestimmung der Lagerstabilität von diesem Material. Es wurden keine konkreten Abbauraten bestimmt, sondern die Zeitpunkte ermittelt, an welchen sich die Konzentrationen bei Carotinoiden und Polyacetylenen signifikant veränderten. Gleichwohl konnte jedoch die Feststellung von Kreutzmann et al. 2007 [Kreutzmann et al., 2007(b)] zum erheblichen Abbau des Falcarindiolgehaltes in Möhren bei längerer Tiefkühlagerung

bestätigt werden. Das Phänomen war auch in gefriergetrocknetem Karottenpulver festzustellen. Als Konsequenz ergibt sich daraus, dass für eine valide Bestimmung von Polyacetylenkonzentrationen in Möhren eine möglichst umgehende Analytik notwendig ist, da es sonst nach spätestens drei Monaten zum Abbau der Polyacetylene und damit zur Verfälschung der Ergebnisse kommt.

Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse wurden alle hier dargestellten Carotinoid- und Polyacetylenanalysen in Zeiträumen deutlich unter zwei Monaten nach der Vermahlung der gefriergetrockneten Karotten durchgeführt. Ausgehend von den Ergebnissen des Tiefkühlagerungsversuchs wurde daher kein Korrekturfaktor für Lagerungsverluste in die abschließende Berechnung der Carotinoid- und Polyacetylenkonzentrationen einbezogen.

#### 5.1.5 Restfeuchtegehalt des gefriergetrockneten Karottenpulvers

Die Versuche zum Restfeuchtegehalt des Karottenpulvers nach Gefriertrocknung ergaben deutliche Unterschiede zwischen dem Material aus Wild- und Kulturmöhren. Die untersuchten Proben von fünf verschiedenfarbigen Kulturmöhren wiesen Restfeuchtegehalte zwischen 4,5 und 7 % auf. Die untersuchte Mischprobe aus Wildmöhren hatte nur einen Restfeuchtegehalt von 2,5 %. Auch wenn mit fünf Proben aus Kulturmöhren nur eine repräsentative Stichprobe aus der Gesamtheit von 100 auf den Restwassergehalt untersucht wurde, muss davon ausgegangen werden, dass in gefriergetrocknetem Pulver von Kulturmöhren generell wegen ihres im Verhältnis zu Wildmöhren höheren relativen Wassergehalts des Frischmaterials bei gleicher Dauer der Gefriertrocknung höhere Wassergehalte verbleiben als dies bei gefriergetrocknetem Pulver von Wildmöhren der Fall ist. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden die Unterschiede im Restfeuchtegehalt des untersuchten Karottenpulvers nicht durch einen Korrekturfaktor in die Berechnungen einbezogen. Die Schwankungen der Restfeuchtegehalte bei Pulver aus Kulturmöhren waren einerseits zu groß, der Probenumfang andererseits zu klein, um einen validen Mittelwert als Korrekturfaktor bilden zu können. Von den Wildmöhren stand wegen der geringeren Biomasse der Wurzeln eine deutlich geringere Menge Probenmaterial zur Verfügung, sodass eine Validierung des Ergebnisses ausfiel. Die Datenbasis war infolgedessen nicht valide. Darüber hinaus lagen die Restfeuchtegehalte sowohl für Kultur- als auch für Wildmöhren nur im einstelligen Bereich. Als Einflussfaktoren lagen die Ungenauigkeiten damit noch im Rahmen des bei der Analytik zu erwartenden Schwankungsbereiches. Bei der Berechnung der Absolutgehalte in mg/100 g FM wurden die Restfeuchtegehalte daher vernachlässigt.



## 5.2 Erster und zweiter Assoziationsversuch

### 5.2.1 Erster Assoziationsversuch

#### 5.2.1.1 Verteilungsmuster der Carotinoidkonzentrationen in 100 Kulturmöhrengenotypen

Der Erkenntnis von Mehwald [Mehwald, 1965], dass die Bodenart signifikanten Einfluss auf die Carotinoidkonzentration hat, wohingegen weder die Sonnenscheindauer noch die Niederschlagssumme einen nachweisbaren Einfluss auf die Carotinoidkonzentrationen haben, wurde dadurch Rechnung getragen, dass eine einheitliche und reproduzierbare Bodenmischung verwandt wurde. Damit wurde der Einfluss des Bodens auf die ermittelten Carotinoidkonzentrationen für alle Genotypen vereinheitlicht.

Die jahreszeitlichen Einflüsse von Licht und Temperatur wurden durch zusätzliche Assimilationsbeleuchtung und Klimatisierung der Gewächshauskabinen kompensiert. Um den Stress von Schädlingsbefall weitgehend auszuschließen, wurden Pflanzenschutzmittel eingesetzt. Insgesamt fand das Pflanzenwachstum mithin unter definierten, nachvollziehbaren Bedingungen statt, die für alle angepflanzten Genotypen gleich waren. Keine Berücksichtigung fand der Umstand, dass möglicherweise einzelne Genotypen aufgrund genetischer Disposition auf die vorgegebenen äußeren Bedingungen durch besonders ausgeprägte und von dem Optimum abweichende Ausbildung der untersuchten sekundären Pflanzeninhaltsstoffe reagierten.

Die Wahl der maximalen Tageshöchsttemperatur von 20 °C und einer ausreichenden und gleichmäßigen Tröpfchenbewässerung berücksichtigt die Erkenntnisse von Roux aus dem Jahr 1965. Danach fördern hohe Temperaturen und geringe Wasserverfügbarkeit die Reife der Karottenwurzel und damit auch die Bildung von Carotinoiden, während hohe Wasserverfügbarkeit und niedrige Temperaturen die Reife behindern und somit auch den Carotinoidgehalt negativ beeinflussen [Roux, 1965].

Die individuelle Reifedauer der einzelnen Genotypen aufgrund der variierenden Genetik und die damit verbundenen, für die Carotinoidbildung optimalen Kultivierungsdauern (vergleiche Banga et al., 1955) [Banga et al., 1955] sind für einen Großteil der am Versuch beteiligten Genotypen nicht bekannt. Der für die Carotinoidbildung jeweils optimale Erntezeitpunkt fand bei der Ernte der Versuchspflanzen keine Berücksichtigung. Alle angebauten Genotypen Kulturmöhren wurden zum selben Zeitpunkt gesät und zum selben, an der regelmäßigen Reifedauer von Kulturmöhren orientierten Zeitpunkt geerntet. Auch insoweit war Ziel der

Untersuchung nicht die Feststellung des nach den Spezifika des jeweiligen Genotyps optimalen Gehaltes an den untersuchten Inhaltsstoffen, sondern die Herstellung einer größtmöglichen Vergleichbarkeit der äußeren Bedingungen, um so die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu optimieren.

Mit einem einheitlichen Erntezeitpunkt wurde darüber hinaus dem in der Literatur beschriebenen Phänomen begegnet, dass Polyacetylene während des Wachstumsprozesses der Karotten gebildet werden und somit der Zeitpunkt der Probennahme/Ernte bzw. der Analyse einen großen Einfluss auf die gemessene Konzentration der Polyacetylene hat [Kreutzmann et al., 2008; Kidmose et al., 2004; Lund und Bruemmer, 1991; Lund und Marion, 1990]. Damit wird dieser Einfluss auf die absoluten Polyacetylengehalte und auf das Verhältnis der einzelnen Polyacetylene in den Genotypen sowie in den einzelnen Pflanzen ausgeschlossen.

In den gefriergetrockneten Karottenproben nehmen sowohl die Carotinoid- als auch die Polyacetylenkonzentrationen während deren Lagerung im Tiefkühlschrank ab (siehe 4.1.1). Um die Abbauraten gering zu halten, wurden die Proben unverzüglich nach der Vermahlung analysiert und das Probenmaterial kontinuierlich bei -68 °C gelagert. Gleichwohl konnte nicht vermieden werden, dass sich sowohl Carotinoide als auch Polyacetylene innerhalb der Zeit zwischen der Ernte und der Analyse abbauten. Die dadurch eingetretenen Ungenauigkeiten konnten angesichts des geringen "Schwundfaktors" aber vernachlässigt werden.

Schwierigkeiten mit der Lycopinanalytik während des ersten Assoziationsversuches führten dazu, dass die ermittelten Daten zu den Lycopinkonzentrationen als nicht hinreichend valide verworfen wurden.

Bei der Betrachtung der Carotinoidkonzentrationen von 100 Genotypen Kulturmöhren fällt besonders die große Bandbreite der Konzentrationen auf. Diese reichen von 0,28 mg/100 g FM  $\beta$ -Carotin in dem roten Genotyp Hataka Kintoki bis zu 45,24 mg/100 g FM  $\beta$ -Carotin in der orangenen Sorte 'Santa Cruz'. Ausgehend von den in der Literatur [Souci et al., 2000] beschriebenen durchschnittlichen  $\beta$ -Carotingehalten in den Karottenwurzeln von 12 mg/100 g FM (Inhaltsstoffe der Karotte in 100 g essbarem Anteil) erscheinen die Konzentrationen der Sorte 'Santa Cruz' mit 45,24 mg/100 g FM als deutliche Ausnahmen. Auch über die Angaben von Simon und Wolff und Simon et al. aus den Jahren 1987 und 2000, welche  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotinkonzentrationen in Kulturmöhren mit Gehalten von 9-16 mg/100 g FM vorfanden [Simon und Wolff, 1987; Simon, 2000], gehen die in der Sorte 'Santa Cruz' gemessenen Konzentrationen an  $\beta$ -Carotin deutlich hinaus.

Betrachtet man die statistische Verrechnung, dargestellt in einem Dendrogramm, fällt besonders auf, dass unter den fünf Sorten, die sich am stärksten von den restlichen Sorten unterschieden, neben vier orangenen Sorten auch eine violette Sorte zu finden ist. Diese Beobachtung wird durch die Aussage von Alsalvar et al. aus dem Jahr 2001 bestätigt. Dieser fand heraus, dass neben orangenen Karotten auch die violett gefärbten Karotten hohe Gehalte an  $\beta$ -Carotin enthalten und deren Gehalte z. T. höher als die bei orange gefärbten Karotten sind [Alsalvar et al., 2001], wobei Anthocyane die typisch orangene Farbe der Carotinoide überdecken und somit die Möhren violett/schwarz erscheinen lassen.

Auffällig sind außerdem die z. T. großen Schwankungen innerhalb eines Genotyps. Die Standardabweichungen bei den Konzentrationen an  $\beta$ -Carotin übersteigen in einigen Fällen die absoluten Konzentrationen von  $\beta$ -Carotin anderer Genotypen. Die Konzentrationsschwankungen zwischen den einzelnen Pflanzen sind bei einigen Genotypen mithin größer als die Unterschiede zu anderen Genotypen. Dass die genetische Variabilität in Bezug auf den Carotinoidgehalt in Kulturmöhren sehr groß ist, untersuchten schon 1987 Simon und Wolff. Diese fanden heraus, dass es eine große genetische Spannweite allein bei den orangenen Karotten, also den Karotten, die durch den Menschen dem höchsten züchterischen Einfluss unterliegen, gibt [Simon und Wolff, 1987].

Die Ergebnisse des ersten Assoziationsversuches zeigen, dass Kulturmöhren eine große Bandbreite an Carotinoidkonzentrationen aufweisen und innerhalb einzelner Genotypen erhebliche Schwankungen bei den Carotinoidgehalten auftreten. Die starken Konzentrationsunterschiede zwischen den untersuchten Genotypen sind auf den Einfluss der genetischen Veranlagung zur Ausbildung von Carotinoiden zurückzuführen.

#### 5.2.1.2 Verteilungsmuster der Polyacetylenkonzentrationen in 100 Genotypen Kulturmöhren

Die von Christensen und Kreutzmann 2007 und Kreutzmann et al. 2008 [Kreutzmann et al., 2008(a); Christensen und Kreutzmann, 2007] gefundenen signifikanten Unterschiede der Gehalte an Falcarinol, Falcarindiol und Falcarindiol-3-Acetat in unterschiedlichen Genotypen fanden im ersten Assoziationsversuch im Wesentlichen Bestätigung. Bei den von Kreutzmann et al. festgestellten Gehalten bei Falcarinol zwischen 2,97 und 6,70 mg/100 g Frischmasse, bei Falcarindiol zwischen 0,48 und 4,04 mg/100 g FM und beim Falcarindiol-3-Acetat zwischen 0,51 und 2,16 mg/100 g FM ist zu berücksichtigen, dass die Studie eine geringere Bandbreite an Genotypen als hier untersucht betraf. Aufgrund der größeren Anzahl und genetischen Diversität der untersuchten Genotypen im vorliegenden Versuch ist die Aussagekraft hinsichtlich der Polyacetylenkonzentrationen in Kulturmöhren deutlich valider

und zeigt, dass die Diversität der Gehalte an Polyacetylenen in Kulturmöhren noch sehr viel ausgeprägter und von größerer Bandbreite ist, als Kreutzmann dies festgestellt hat.

Wird die statistische Verrechnung und die damit verbundene Einordnung der Kulturmöhren nach ihren jeweiligen Gehalten an Polyacetylenen in die Betrachtung einbezogen, so kristallisieren sich acht Genotypen mit besonders hohen Polyacetylgehalten heraus. Beachtlich hierbei ist, dass die Sorte mit den höchsten Polyacetylgehalten die violette Sorte Anthonina ist. Diese Beobachtung bestätigt die Feststellungen von Metzger und Barnes aus dem Jahr 2009, die zeigten, dass violette Karotten den höchsten Gehalt an Polyacetylenen und anderen wichtigen Phytochemicals aufwiesen [Metzger und Barnes, 2009]. Neben der Sorte 'Anthonina' sind noch drei weitere violette Karotten unter den acht Sorten mit den höchsten Polyacetylgehalten zu finden. Auch wenn damit fünfzig Prozent der Genotypen mit den höchsten Polyacetylenkonzentrationen violetter Farbe waren, bedeutet dies aber auch, dass allein aufgrund der violetten Farbe der Wurzel nicht auf einen besonders hohen Gehalt an Polyacetylenen geschlossen werden darf. Denn die anderen fünfzig Prozent der Kulturmöhren mit dem höchsten Gehalt an Polyacetylenen waren gelbe oder orangene Möhren. Insofern bedürfen die Feststellungen von Metzger und Barnes der Relativierung.

Die Betrachtung der Standardabweichungen bei den gemessenen Konzentrationen der Polyacetylene bestätigt sehr anschaulich die Richtigkeit der Schlussfolgerungen von Kreutzmann et al. 2008 zur Varianz innerhalb desselben Genotyps. Sie stellten fest, dass sowohl bei Karottenschalen als auch bei geschälten Karottenproben innerhalb der Karottenproben desselben Genotyps deutliche Unterschiede im Polyacetylgehalt auftraten und gingen angesichts der guten Reproduzierbarkeit ihrer HPLC-Methoden davon aus, dass der Ursprung der Konzentrationsschwankungen nicht auf einen systematischen Fehler in der Analysemethode, sondern auf die Unterschiede im Karottenmaterial selbst zurückzuführen sind. Sie schlossen daher, dass der Polyacetylgehalt innerhalb eines Genotyps bei gleichen Anbauconditionen von Karotte zu Karotte schwankt [Kreutzmann et al., 2008(a)]. Auch wenn die Varianz von Genotyp zu Genotyp unterschiedlich groß ist, können die Thesen dazu von Kreutzmann et al. angesichts der Häufigkeit und Deutlichkeit der Schwankungsbreite bei dem großen Probenumfang der Untersuchung als bestätigt angesehen werden.

Die Feststellungen von Crowden et al. 1969, die Polyacetylene in verschiedenen *Daucus*-Typen in unterschiedlichen Zusammensetzungen nachwiesen, in allen Genotypen aber das Polyacetylen Falcarinol fanden [Crowden et al., 1969], werden durch die Ergebnisse dieses Versuches bestätigt. Alle hier untersuchten 100 Genotypen von Kulturmöhren enthielten

FaOH, wenn z. T. auch nur in sehr geringen Konzentrationen (0,078 mg/100 g FM als Minimum).

Ebenfalls bestätigt werden konnte die Aussage von Czepa, Kidmose und Lund, nach der in ungeschälten Karotten Falcarindiol als das Polyacetylen mit der höchsten Konzentration vorkommt [Czepa und Hofmann, 2004; Kidmose et al., 2004; Lund und Marion, 1990; Lund und Bruemmer, 1991].

Ausgehend von den nachgewiesenen hohen Polyacetylenkonzentrationen in einer Reihe von Kulturmöhrengenotypen stellt sich die Frage, ob diese Genotypen durch einen auffallend bitteren Geschmack gustatorisch sehr einfach zu identifizieren sind. Dagegen sprechen die beiden folgenden Umstände: Zum einen besteht, wie die Auswertung der Daten zeigt, ein hohes Maß an Wahrscheinlichkeit, dass Kulturmöhren mit hohen Konzentrationen an Polyacetylenen einen hohen Zuckergehalt aufweisen, der den bitteren Fehlgeschmack in den Karotten durch den Süßgeschmack maskiert. Hinzu kommt, dass die Werte hoher Konzentrationen an Polyacetylenen innerhalb eines Genotyps häufig mit großen Standardabweichungen versehen sind, die z. B. bei der Sorte 'Anthonina' teilweise über ein Drittel der absoluten Konzentration ausmachen. Damit sinkt die Wahrscheinlichkeit, bei der stichprobenartigen Verkostung eine bittere Möhre zu erhalten in solchem Maße, dass der für die Praxis erforderliche Grad der Verlässlichkeit einer gustatorischen Identifikation erst bei einer hinreichend großen Mischprobe erreicht werden kann.

Die z. T. sehr hohen Konzentrationen an Polyacetylenen in einer Reihe von Kulturmöhrengenotypen eröffnen neben dem negativen Effekt des bitteren Fehlgeschmacks auch positive Möglichkeiten. So sind die Polyacetylene mit ihrer gesundheitsfördernden Wirkung in den letzten Jahren stärker in den Fokus auch der pharmazeutischen Industrie gerückt. Durch die guten Möglichkeiten maschineller Bearbeitung sowohl im Feld als auch bei der späteren Weiterverarbeitung können Karotten bei der Gewinnung von Polyacetylenen für medizinische und therapeutische Zwecke große Vorteile bieten. Gegenwärtig wird das für medizinische und therapeutische Zwecke verwendete Falcarinol hauptsächlich aus Ginsengwurzeln gewonnen [Hansen und Boll, 1986]. Die Kultivierung von Ginseng ist jedoch recht kostenintensiv. Hier könnten Kulturmöhren nach der gezielten Selektion von polyacetylenreichen Sorten eine möglicherweise wirtschaftlich interessante Alternative zum Ginseng bieten.

### 5.2.1.3 Verrechnung der Carotinoid- und Polyacetyleneergebnisse in 100 Kulturmöhrengenotypen

Bei der Betrachtung der Ergebnisse aus der statistischen Verrechnung von Carotinoid- und Polyacetylenkonzentrationen in 100 Genotypen des ersten Assoziationsversuchs fiel auf, dass sich zwar insgesamt fünfzehn Genotypen kaskadenförmig ansteigend von den restlichen Genotypen in ihren Carotinoid- und Polyacetylenkonzentrationen unterscheiden. Drei Genotypen ragen aber hinsichtlich ihrer außerordentlich hohen Gehalte heraus. Bei diesen handelte es sich zum einen um die beiden Ausreißer 'Anthonina' und 'Landrace' aus der Verrechnung der Polyacetylendaten, zum anderen um den Ausreißer 'Santa Cruz', welcher bei der Verrechnung der Carotinoiddaten hervorstach.

Bei der Verrechnung zeigte sich außerdem, dass polyacetylenreiche Sorten durchaus auch hohe Carotinoidkonzentrationen aufweisen können. Hierdurch kann die schon zuvor aufgestellte These bestätigt werden, dass nicht nur violett gefärbte Karotten, sondern auch vollständig orange gefärbte Kulturmöhrensorten hohe Polyacetylenkonzentrationen enthalten können.

### 5.2.1.4 Verteilungsmuster der flüchtigen Inhaltsstoffe in 100 Kulturmöhrengenotypen

Bisher konnten bei rohen Möhren mehr als 90 Aromakomponenten identifiziert werden [Simon et al., 1980(a); Seljåsen et al., 2001(a,b); Rosenfeld et al., 2002; Varming et al., 2004; Alasalvar et al., 2001; Howard et al., 1995; Shamaila et al., 1996; Alasalvar et al., 1999; Kjeldsen et al., 2001; Kjeldsen et al., 2003; Buttery et al., 1968; Yoo et al., 1997; Habegger und Schnitzler, 2005]. Weil sich aber bei JKI-ÖPV-internen Untersuchungen herausstellte, dass 23 der Komponenten das Aromaprofil der Karotte fast vollständig abdecken, wurde die Untersuchung auf flüchtige Inhaltsstoffe auf die beschriebenen 23 flüchtige Substanzen beschränkt. Bei der statistischen Verrechnung dieser Verbindungen fiel auf, dass 11 Genotypen im Verhältnis zu den restlichen Genotypen ein stark abweichendes Aromamuster aufweisen. Eine Korrelation mit einer Wurzelfarbe ergab sich jedoch nicht. Außerdem stellte sich heraus, dass das Aromastoffmuster bei Möhren zwischen den einzelnen Genotypen erheblich variiert. Dieses Phänomen hatte 2001 schon Kjeldsen et al. beschrieben [Kjeldsen et al., 2001].

Das negative Ergebnis der vorliegenden Untersuchung auf Korrelationen zwischen dem Gehalt an nicht-flüchtigen Inhaltsstoffen in der Wurzel und einem Aromamuster in den Blättern schließt die Möglichkeit eines Rückschlusses auf die wertgebenden Inhaltsstoffe in der Karottenwurzel durch die Analyse der flüchtigen Komponenten im Blatt aus.

#### 5.2.1.5 Verteilungsmuster der Zucker in 99 Genotypen Kulturmöhren

Wie der Korrespondenzanalyse der Zuckerkonzentrationen in den untersuchten 99 Genotypen Kulturmöhren zu entnehmen ist, lagern sich die meisten Genotypen zwischen den drei Zuckern an. Dies ist nicht weiter verwunderlich, da das Disaccharid Saccharose aus den beiden Monosacchariden Fructose und Glucose besteht und somit sehr eng mit diesen „verknüpft“ ist.

Die nahezu perfekte Normalverteilung der Saccharosekonzentrationen unter den 99 untersuchten Genotypen lässt den Schluss zu, dass die Züchtung kaum gezielten Einfluss auf den Saccharosegehalt der Kulturmöhren genommen hat oder hat nehmen können.

Die breite Streuung der Konzentrationsbereiche bei den erhobenen Zuckerdaten ist ebenfalls auffällig. Aus der großen Streuung und der annähernden Normalverteilung der Saccharidkonzentrationen ist abzuleiten, dass der gescreente Pool an Kulturmöhren breit gefächert ist.

Im Vergleich mit den in der Literatur angegebenen Werten durchschnittlicher Zuckerkonzentration für Kulturmöhren von 4,8 mg/100 g FM [Souci et al., 2000] sind die im vorliegenden Versuch festgestellten Werte geringer, wie dem Verteilungsmuster der Tabelle 4.2.1 zu entnehmen ist. Dies ist vor allem durch die Kultivierung im Gewächshaus zu erklären. Bei einer solchen Kultivierung unterliegen die Karottenpflanzen keinen Schwankungen im Bereich der Temperatur, Wasserversorgung oder der Mineralstoffe. Alle Bedingungen sind in den Gewächshausversuchen so gewählt, dass sie zu einer optimalen Entwicklung der Pflanze führen. Die natürlichen Schwankungen in der Versorgung mit Wasser, Nährstoffen oder bei der Temperatur, wie sie im Freiland zu finden sind und welche zu erhöhten Zuckerkonzentrationen, z. B. durch Wassermangel oder erhöhte Temperaturen, führen können, sind im Gewächshaus ausgeschlossen. Die im Verhältnis zu den in der Literatur beschriebenen niedrigen Zuckerkonzentrationen in den 100 Kulturmöhrengenotypen sind somit kein Ausdruck von Krankheiten oder anderen Störungen in der natürlichen Entwicklung der Pflanze, sondern Ausdruck für gleichmäßige Wachstumsbedingungen im Gewächshaus.

#### 5.2.1.6 Validierung der erhobenen Ergebnisse mittels statistischer Methoden

Nach der Durchführung einer Hauptkomponentenanalyse wird, wie in der Abbildung 4-2-14 dargestellt, ersichtlich, dass es einen logischen Zusammenhang zwischen den Ergebnissen der durchgeführten Analysen auf Carotinoide, Zucker und Polyacetylene sowie deren

chemischen Eigenschaften aus der Theorie gibt. Es zeigt sich, dass sowohl die beiden Monosaccharide Glucose und Fructose eng zusammenliegen und das Disaccharid, welches aus beiden Monosacchariden synthetisiert wird, sehr weit entfernt liegt. Die beiden Carotine  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin liegen deutlich entfernt vom Xanthophyll Lutein, da dieses im Gegensatz zu den Carotinen zwei OH-Gruppen besitzt. Plausibel ist ebenfalls, dass alle drei Polyacetylene sehr dicht nebeneinander in einem Quadranten liegen was durch deren Herkunft aus einer chemischen Gruppe zu erklären ist. Somit können durch das Mittel der statistischen Verrechnung die erhobenen Daten und ihre Beziehungen untereinander sehr übersichtlich dargestellt und die ermittelten Ergebnisse validiert werden. Da keine Besonderheiten in der PCA zu finden sind, ist der Schluss zulässig, dass die ermittelten Ergebnisse der Carotinoid-, Polyacetylen- und Zuckerkonzentrationen logisch verteilt sind und die Analysen damit in sich schlüssige Ergebnisse zeigen.

Auffällig und auch etwas überraschend ist bei der PCA die Nähe von Saccharose und den Polyacetylenen, also von den Geschmackseindrücken süß und bitter. Die Nähe der beiden chemischen Gruppen weist darauf hin, dass es innerhalb des untersuchten Pools von Kulturmöhren nicht möglich ist, besonders süße Karotten zu finden, welche nicht auch einen gewissen Bittergehalt haben. Dadurch wird die These gestützt, dass die durch Polyacetylene in Karotten hervorgerufenen bitteren Geschmackseindrücke zumindest zu einem guten Teil durch den Geschmackseindruck süß maskiert werden.

#### 5.2.1.7 Ausblick

Überraschendes Ergebnis des breiten Screenings von 100 Genotypen Kulturmöhren auf wertgebende Inhaltsstoffe ist, dass diese z. T. sehr hohe Polyacetylenkonzentrationen aufweisen. Daraus muss für den Anbau und die Karotten-verarbeitende-Industrie der Schluss gezogen werden, dass schon bei der Auswahl der Genotypen der Karotten auf deren genetisch bedingte Polyacetylenkonzentrationen geachtet werden muss, damit es bei unerwünschtem Bittergeschmack der Karotten nicht zu wirtschaftlichen Schäden kommt. Anhaltspunkte über die Polyacetylenkonzentrationen in den gängigsten Karottensorten, welche weltweit angebaut werden sowie deren Carotinoid- und Zuckergehalte finden sich in der Tabelle A-7-2 im Anhang dieser Arbeit.

Bei der Korrespondenzanalyse der Ergebnisse des Versuchs ist festzustellen, dass die Polyacetylene und das Disaccharid Saccharose sehr dicht beieinander liegen. Daraus ergibt sich, dass polyacetylenhaltige Kulturmöhren immer Saccharose enthalten. Dieser Umstand erklärt, warum in Kulturmöhren der bittere Geschmack der Polyacetylene vielfach gar nicht



oder nur sehr schwach zu bemerken ist. Die in den Möhren enthaltene Saccharose maskiert den bitteren Geschmack der Polyacetylene.

Die mit dem Versuch festgestellten z. T. sehr hohen Gehalte von Polyacetylenen in Kulturmöhren geben Anlass, die Möglichkeit der industriellen Gewinnung von Polyacetylen daraus zu untersuchen. Die Sorte 'Anthonina', welche die höchsten Polyacetylengehalte aufwies, ist eine durchgezüchtete Kulturmöhre. Sie ist zwar in unseren Breiten nicht sehr weit verbreitet und findet auch in unseren Klimaten nicht optimale Wachstumsbedingungen vor, bildet hier jedoch in sehr hohem Maße Polyacetylene aus. Die Verwendung von Kulturmöhren für die industrielle Gewinnung von Polyacetylenen hat gegenüber der Verwendung von Wildmöhren den Vorteil bekannter und planbarer Anbau-, Ernte- und Verarbeitungsmethoden und den Vorteil der im Verhältnis zu Wildmöhren deutlich höheren Ausbeuten an Biomasse der Einzelpflanzen.

### 5.2.2 Zweiter Assoziationsversuch

#### 5.2.2.1 Verteilungsmuster der Carotinoidkonzentrationen in 104 Wildmöhrengenotypen

Werden die statistischen Verrechnungen der Carotinoidwerte genauer betrachtet, ergeben sich sechs Wildmöhrengenotypen mit erstaunlich hohen  $\beta$ -Carotinkonzentrationen. So liegen die höchsten  $\beta$ -Carotingehalte bei 69,96 mg/100 g FM und damit deutlich über der höchsten gemessenen  $\beta$ -Carotinkonzentration bei den Kulturmöhren. Dies ist besonders überraschend, da die Wildmöhren in aller Regel weiße Fadenwurzeln ausbilden. Allerdings kann die hohe Konzentration an  $\beta$ -Carotin an der Wurzel des Genotyps 171 äußerlich erkannt werden. Anders als die meisten Wildtypen bildet dieser Genotyp Wurzeln in rötlicher Farbe aus und weist eine größere Biomasse auf (siehe Abbildung A-7-33 im Anhang).

Ebenso erstaunlich wie die sehr hohen  $\beta$ -Carotinkonzentrationen ist die Anwesenheit von Lycopin in zwei Genotypen. Dies war jedoch weder von außen noch bei der aufgeschnittenen Wurzel innen zu erkennen. Die fehlende Sichtbarkeit der roten Farbe des Lycopins ist mit den sehr geringen Konzentrationen von 0,06 und 0,54 mg/100 g FM zu erklären.

Zu beachten sind außerdem die z. T. starken Standardabweichungen. Diese sind in einigen Fällen innerhalb des Genotyps größer als die Unterschiede zwischen den Genotypen. Diese Beobachtung steht im Einklang mit dem Umstand der teilweise erheblichen Standardabweichungen bei den Carotinoidkonzentrationen in Kulturmöhren. Das lässt den

Schluss zu, dass es zur genetischen Disposition von Möhren insgesamt gehört, dass der Carotinoidgehalt innerhalb eines Genotyps von Pflanze zu Pflanze in erheblichem Umfang variieren kann.

#### 5.2.2.2 Verteilungsmuster der Polyacetylenkonzentrationen in 104 Wildmöhrengenotypen

Hinsichtlich der Polyacetylene sind eine Reihe von Phänomenen in Wildmöhren ebenso zu beobachten wie in Kulturmöhren. So trifft der generelle Befund von Czepa, Kidmose und Lund für Kulturmöhren, wonach in ungeschälten Karotten Falcarindiol das Polyacetylen mit der höchsten Konzentration war [Czepa und Hofmann, 2004; Kidmose et al., 2004; Lund und Marion, 1990; Lund und Bruemmer, 1991], auch auf den hier untersuchten Pool an Wildmöhren zu. Die Ergebnisse der Untersuchung von Crowden aus dem Jahr 1969, wonach sich die Polyacetylenzusammensetzung zwischen den unterschiedlichen Genotypen von Kulturmöhren unterschieden und wonach allen Genotypen Kulturmöhren die Präsenz des Polyacetyls Falcarinol gemeinsam war, [Crowden et al., 1969], treffen auch auf die hier untersuchten Wildmöhren zu. Die Aussage Kreutzmanns, dass die Gehalte für FaOH, FaDOH und FaDOH-3-Acetat sich in Kulturmöhrengenotypen signifikant unterscheiden [Kreutzmann et al., 2008(a)], konnte auch bei den Wildmöhren festgestellt werden.

Das nicht nur für Carotinoide, sondern auch bei Polyacetylenen für Kulturmöhren beschriebene Phänomen, dass innerhalb der Karottenproben desselben Genotyps deutliche Unterschiede auftreten [Kreutzmann et al., 2008(a)], findet eine Entsprechung bei den hier untersuchten Wildmöhren. Der Schluss, dass der Polyacetylengehalt innerhalb eines Genotyps bei gleichen Anbauconditionen von Karotte zu Karotte schwankt, gilt grundsätzlich also auch für Wildmöhren.

Bestätigt werden konnten die 2005 von Baranska und Schulz sowie Schulz et al. durchgeführten Screeningstudien von unterschiedlichen Genotypen, welche zu dem Schluss kamen, dass der Gehalt an Polyacetylenen in den Wildformen deutlich höher liegt als in den kultivierten Karotten [Baranska und Schulz, 2005; Schulz, 2005]. Die Verknüpfung der hier vorgestellten Ergebnisse der Analysen von Kultur- und Wildmöhren bestätigen dies teilweise. Wie sich aus Tabelle 4-3-5 sehr anschaulich ergibt, haben viele Wildformen deutlich höhere Polyacetylengehalte als Kulturmöhren. Allerdings sind in einem weiten Bereich der gemessenen Konzentrationen an Polyacetylenen sowohl Kultur – als auch Wildmöhren vertreten. Aus dieser Abbildung geht ebenfalls sehr deutlich hervor, dass bei FaDOH sehr viele Wildmöhren mit sehr hohen Konzentrationen zu finden sind, während bei FaDOH-3-Acetat und FaOH schon deutlich mehr Kulturmöhren mit hohen Konzentrationen aufzufinden sind. Eine generelle Aussage, der Gehalt an Polyacetylenen in den Wildformen liege deutlich

höher als in den kultivierten Karotten [Baranska und Schulz, 2005; Schulz, 2005] kann nach den Ergebnissen dieser Assoziationsstudie nicht bestätigt werden. Bei Betrachtung von 204 Genotypen Wild- und Kulturmöhren ergibt sich ein deutlich differenzierteres Bild im Hinblick auf die Konzentrationen von Polyacetylenen und die überraschende Erkenntnis, dass die Polyacetylgehalte einer ganzen Reihe von Kulturmöhren größer sind als die einer Vielzahl von Wildmöhren. Eine sorgfältige Einzelbetrachtung der konkreten Genotypen ist daher vonnöten.

Die in der Literatur für Kulturmöhren beschriebenen konkreten Polyacetylgehalte, welche Kreutzmann et al. 2008 veröffentlichten [Kreutzmann et al., 2008(a)], wurden bei den hier vorgenommenen Untersuchungen an Wildmöhren erwartungsgemäß bei Weitem überschritten.

Werden die tabellarisch aufgeführten Polyacetylenkonzentrationen für die 104 untersuchten Genotypen Wildmöhren (siehe Anhang A-7-3) mit dem in der Tabelle 3-4-1 ermittelten Wassergehalt für Wildmöhren in Verbindung gebracht und in Relation zu den Werten für die Kulturmöhren gesetzt (siehe Anhang A-7-1), so fällt auf, dass die Kulturmöhren generell deutlich höhere Wassergehalte haben und somit die Wildmöhren, berechnet auf deren Trockensubstanz, deutlich höhere Polyacetylgehalte aufweisen. Der absolute Gehalt an Polyacetylenen je Karottenwurzel wird aber durch die deutlich höheren Biomassen, welche die Wurzel der Kulturmöhre durchgängig aufbringt, im Verhältnis zu dem absoluten Gehalt an Polyacetylenen je Wurzel in Wildmöhren wieder angeglichen. Dieser Umstand ist bei den Überlegungen zu einer möglichen industriellen Nutzung von Wildmöhren als Lieferanten für Polyacetylene zu beachten.

#### 5.2.2.3 Verrechnung der Konzentrationen von Carotinoiden und Polyacetylenen in 104 Genotypen Wildmöhren

Bei der Verrechnung der Carotinoid- und Polyacetylenkonzentrationen war vor allem auffällig, dass die meisten Ausreißer hohe Polyacetylgehalte aufwiesen, während nur zwei Genotypen deutlich erhöhte Carotinoidgehalte zeigten. Eine weitere Besonderheit war der Umstand, dass es zumindest einen Genotyp unter den Wildmöhren, die Nummer 159, gab, welcher gleichzeitig hohe Polyacetylen- und Carotinoidgehalte aufwies. Erstaunlich an den Carotinoidgehalten dieses Genotyps war, dass der  $\beta$ -Carotin- und FaDOH-Gehalt deutlich höher lagen als bei dem stärksten Ausreißer, welcher bei den Kulturmöhren in der Verrechnung der Carotinoide und Polyacetylene festgestellt werden konnte. Besonders der hohe  $\beta$ -Carotingehalt ist für Wildmöhren erstaunlich, da diese für gewöhnlich weiß sind und kaum bemerkenswerte Carotinoidgehalte aufweisen. Insgesamt sind Genotypen von

Wildmöhren vorhanden, von welchen aufgrund der weißen Farbe erwartet wird, dass diese nur sehr geringe Carotinoidkonzentrationen haben, gleichwohl deutlich höhere Carotinoidkonzentrationen als vollständig orange durchgefärbte Kulturmöhren bei einem gleichzeitig sehr hohen Polyacetylgehalt aufweisen. Ein sicherer Schluss aus dem äußeren Bild der einzelnen Genotypen Wildmöhren auf deren Gehalte an Carotinoiden und Polyacetylenen ist daher nicht möglich. Auch hier ist eine sorgfältige Einzelbetrachtung der Analysen der Inhaltsstoffe der konkreten Genotypen angezeigt.

#### 5.2.2.4 Validierung der erhobenen Ergebnisse

Bei der Validierung der ermittelten Ergebnisse aus dem Assoziationsversuch II zeigte sich vor allem, dass die meisten Genotypen durch deren Konzentrationen an FaDOH und FaDOH-3-Acetat geprägt werden. Auch die Lage der beiden Polyacetylene zueinander und die größere Distanz zum FaOH ist chemisch zu erklären und somit valide. Die Splittung der Carotinoide in die Gruppe  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin sowie der Gruppe Lutein lässt sich mit chemischen Unterschieden zwischen Carotinen und Xanthophyllen erklären. Die Distanz zum Lycopin ist chemisch nicht zu erklären, allerdings ist das geringe Auftreten des Lycopins in den Wildmöhren bei nur zwei Genotypen zu vernachlässigen und damit auch die ermittelte Distanz zu den restlichen Carotinoiden. Ebenfalls bedingt durch die geringe Anzahl der Genotypen, in welchen Lycopin auftritt, und damit vernachlässigbar ist die Gruppierung des Lycopins in direkter Nähe zum FaDOH und FaDOH-3-Acetat. Somit fällt die Nähe zu den Polyacetylenen nicht weiter ins Gewicht.

#### 5.2.2.5 Ausblick

Durch die sehr hohen Polyacetylgehalte sind die Wildmöhren eine Alternative für die industrielle Gewinnung von Polyacetylenen als gesundheitsfördernden Inhaltsstoffen. Karotten sind im Allgemeinen besonders gut für eine maschinelle Ausbringung, Ernte und Verarbeitung geeignet und können, bei vergleichbaren Polyacetylgehalten, gegenüber Ginseng-Wurzeln als natürliche Lieferanten von Polyacetylenen wirtschaftliche Vorteile bieten. Wildmöhren bieten für die Polyacetyलगewinnung darüber hinaus gegenüber Kulturmöhren den Vorteil, dass sie größtenteils recht niedrige Carotinoidkonzentrationen haben. Aus der statistischen Verrechnung der Carotinoid- und Polyacetylenkonzentrationen in Wildmöhren ist zu entnehmen, dass die Wildmöhrengenotypen mit den höchsten Polyacetylenkonzentrationen sehr geringe Carotinoidkonzentrationen aufweisen. Dies spricht zusätzlich für eine Bevorzugung von Wildmöhren bei der Gewinnung von natürlichen Polyacetylenen. Das in der Verarbeitung störende Carotin ist von vornherein nicht oder nur in

geringen Konzentrationen vorzufinden. Einer industriellen Nutzung von Wildmöhren steht allerdings entgegen, dass die meisten Wildmöhren sehr wenig Biomasse in den Speicherwurzeln aufbauen und somit die Polyacetylenausbeute pro Wurzel sehr gering ist. Darüber hinaus sind, da es sich um Wildmaterial handelt, wichtige Parameter für eine wirtschaftliche Nutzung wie ein gleichmäßiger Auflaufzeitpunkt, gleicher Zeitpunkt der Vollreife und geringe Durchschossung im Laufe des Aufwuchses vor der Vernalisation, was bei durchgezüchteten Kulturmöhren selbstverständlich ist, bei Wildmöhren nicht anzutreffen. Vor einer industriellen Nutzung von Wildmöhren ist daher ein erheblicher züchterischer Aufwand erforderlich, um den heutzutage geltenden Voraussetzungen für den industriellen Anbau von Karotten zu entsprechen.

### 5.3 Feldstudien 2008 und 2009

Bei der Durchführung des zweiortigen, zweijährigen Feldversuchs an den Standorten Krakow und Quedlinburg lag das besondere Augenmerk auf der Fragestellung, inwieweit der Einflussfaktor Standort Auswirkungen auf den Gehalt der nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe hat.

#### 5.3.1 Carotinoidgehalte in den Feldstudien 2008/2009

Die Daten der Carotinoidanalytik der Feldstudien der Jahre 2008 und 2009, welche unter Punkt 4-4-1 dargestellt sind, ergeben hinsichtlich des Standorteinflusses ein heterogenes Bild. Standortbedingte Unterschiede der Carotinoidkonzentrationen sind bei allen der zehn Genotypen zu verzeichnen. Eine nähere Betrachtung ergibt, dass sich der Standorteinfluss zum einen durch unterschiedlich starke Ausprägung der Differenzen der Carotinoidgehalte zwischen den Standorten bemerkbar macht. Einige der untersuchten Genotypen zeigen einen geringen Standorteinfluss ('Yellowstone'), andere ('Pusa Kesar') einen ausgeprägten. Zum anderen ist festzustellen, dass auch die Art des Standorteinflusses unterschiedlich sein kann. Während bei vier der Genotypen am Standort Krakow im Verhältnis zum Standort Quedlinburg erhöhte Gehalte an Carotinoiden festzustellen sind (besonders deutlich bei 'Nutired' und 'Pusa Kesar'), ist das Verhältnis bei 'Nerac F1' umgekehrt. Schließlich zeigen zwei Genotypen ('Santa Cruz' und 'Deep Purple F1') von Jahr zu Jahr unterschiedliche Ergebnisse: im einen Jahr finden sich in Krakow höhere Carotinoidkonzentrationen, im anderen in Quedlinburg. Letzteres deutet darauf hin, dass bei diesen Genotypen weniger der Boden und die allgemeinen klimatischen Bedingungen des jeweiligen Standortes als vielmehr die Spezifika der Anbaubedingungen des jeweiligen Jahres wesentlichen Einfluss auf die Carotinoidkonzentrationen haben.

Die teilweise Präsenz und Absenz von Lycopin in den drei Genotypen 'Nerac F1', 'Anthonina' und 'Santa Cruz' ist im Fall der Sorte 'Nerac F1' mit dem Anbaujahr zu erklären; so ist deutlich Lycopin im Jahr 2008 in den Möhren beider Standorte zu beobachten, während im Anbaujahr 2009 die Möhren beider Standorte kein Lycopin aufwiesen. Bei der Sorte 'Anthonina' konnte Lycopin nur am Standort Krakow im Erntejahr 2008 in sehr geringen Konzentrationen nachgewiesen werden, sodass eine mögliche Erklärung für das Auftreten des Lycopins eine Schwankung im Genotyp sein kann. Bei der Sorte 'Santa Cruz' verhält es sich genau umgekehrt, hier konnte das Lycopin nur im Jahr 2009 am Standort Krakow nicht nachgewiesen werden, wohingegen zu den restlichen Erntezeitpunkten Lycopin detektiert werden konnte. Auch hier wird angenommen, dass sich die Schwankungen im Wesentlichen durch den Genotyp ergeben. Der Einfluss des Standortes dürfte nicht maßgeblich gewesen sein, da im Jahr 2008 Lycopin am Standort Krakow nachgewiesen werden konnte. Ein Wettereinfluss erscheint wenig wahrscheinlich, da es am Standort Quedlinburg trotz unterschiedlicher Wetterbedingungen 2008 und 2009 zur Bildung von Lycopin kam.

Aus diesen variantenreichen Ergebnissen lassen sich verallgemeinerungsfähige Schlussfolgerungen ziehen: Der Einfluss des Anbaustandes und damit die Umweltbedingungen auf das Ausmaß und die Erhöhung oder Verminderung der Carotinoidkonzentrationen in Möhren ist deutlich vom jeweiligen Genotyp abhängig. Einige Genotypen Kulturmöhren sind hinsichtlich ihrer Carotinoidkonzentration weitgehend standortunabhängig. Schließlich werden die Carotinoidkonzentrationen bei einigen Genotypen Kulturmöhren weniger stark vom Standort als von den jeweiligen jahrgangsspezifischen Bedingungen des Anbaus bestimmt.

Gemeinsam ist diesen Erkenntnissen, dass der genetische Einfluss auf die Carotinoidkonzentration gegenüber den anderen Einflüssen von ganz erheblichem Gewicht ist. Der Einfluss wirkt sich in jeweils für die untersuchten Genotypen spezifischer Weise aus. Das jeweilige Zusammenspiel von konkretem Standort und Genotyp bedarf mithin genauerer Beachtung, wenn die Carotinoidbildung wesentlichen Einfluss für die Anbauentscheidung haben soll.

### 5.3.2 Polyacetylengehalte in den Feldstudien 2008/2009

Die Ergebnisse der Polyacetylenanalytik des zweiortigen, zweijährigen Feldversuchs ergeben auf den ersten Blick ein ebenso heterogenes Bild wie die Ergebnisse der Untersuchungen auf Carotinoidgehalte. Bei der Hälfte der 10 Genotypen finden sich in Krakow höhere Konzentrationen an Polyacetylenen als in Quedlinburg. Ein umgekehrtes

Ergebnis fehlt völlig. Allerdings ist bei der anderen Hälfte der Genotypen ('710015', 'Nerac F1', 'Anthonina', 'Blanche ½ longue des vosges' und 'Pusa Kesar') festzustellen, dass im ersten Anbaujahr in Quedlinburg, im zweiten Anbaujahr in Krakow höhere Konzentrationen an Polyacetylenen entwickelt wurden. Die überwiegende Zahl der untersuchten Genotypen (8 von 10) haben auf die unterschiedlichen Standorte mit deutlichen Unterschieden in der Polyacetylenkonzentration reagiert. Relativ gering waren die Unterschiede nur bei dem Wildtyp '710015', dem Genotyp 'White Satin' waren die Unterschiede im ersten Jahr deutlich, im zweiten Jahr nur mäßig ausgeprägt. Insgesamt drängt sich der Eindruck auf, dass der Standort Krakow auf die Bildung von Polyacetylenen in den untersuchten Genotypen einen positiveren Einfluss ausübt als der Standort Quedlinburg. Ein solches Ergebnis stimmt mit den Erkenntnissen von Kidmose aus dem Jahr 2004 überein, welcher feststellte, dass der Standort der Karotten einen signifikanten Einfluss auf den Polyacetylengehalt hat [Kidmose et al., 2004].

Bei einem Vergleich der Konzentrationen an Polyacetylenen mit den an Carotinoiden lassen sich weder für die einzelnen Genotypen noch insgesamt standortbedingte Gemeinsamkeiten feststellen.

Wie bei den Carotinoidkonzentrationen ist auch bei den Konzentrationen der Polyacetylene festzustellen, dass die unterschiedlichen Genotypen unterschiedlich ausgeprägt auf die Standortunterschiede reagieren. Die besonders intensiven Reaktionen bei der Bildung von Polyacetylenen betreffen aber nicht dieselben Sorten, die bei den Carotinoidkonzentrationen große Schwankungen zwischen den Standorten aufweisen. Eine Ausnahme macht die Sorte 'Nutrired'. Sie hat in beiden Versuchsjahren am Standort Krakow deutlich höhere Konzentrationen sowohl an Carotinoiden als auch an Polyacetylenen gezeigt als am Standort Quedlinburg. Bei den Sorten 'Anthonina' und 'Deep Purple F1' fallen die hohen Konzentrationen an FaOH und FaDOH-3-Acetat auf. Ein Abgleich mit den Ergebnissen aus dem ersten Assoziationsversuch (Anhang A-7-2) zeigt, dass diese hohen Konzentrationen an FaOH und FaDOH-3-Acetat typisch für diese beiden Genotypen sind und somit nicht vom Standort abhängen.

Im Übrigen legt der Vergleich der Polyacetylenkonzentrationen in den 10 Genotypen nach den zweijährigen, zweiortigen Feldversuchen denselben Schluss nahe, wie er sich beim Vergleich der Carotinoidkonzentrationen ergibt: In den untersuchten Kulturmöhren ist der genetische Einfluss auf die Konzentration von Polyacetylenen gegenüber den anderen Einflüssen von ganz erheblichem Gewicht. Der Einfluss wirkt sich für die untersuchten Genotypen unterschiedlich und in jeweils spezifischer Weise aus. Das Zusammenspiel von

konkretem Standort und Genotyp der Kulturmöhre bedarf mithin genauer Beachtung, wenn die Bildung von Polyacetylenen wesentlichen Einfluss für die Anbauentscheidung haben soll.

### 5.3.3 Zuckergehalte in den Feldstudien 2008/2009

Die bei der Betrachtung der Zuckerkonzentrationen festgestellten starken Schwankungen von Standort zu Standort und Jahr zu Jahr innerhalb desselben Genotyps können auf den Standorteinfluss zurückgeführt werden. Einzig die Sorten 'White Satin', 'Nerac F1' und '710015' bilden mit ihren relativ stabilen Zuckerkonzentrationen eine Ausnahme. Bei diesen drei Sorten scheint der Standort keinen bedeutenden Einfluss auf die Zuckerkonzentrationen zu haben. Die Konzentrationsunterschiede zwischen zehn untersuchten Genotypen sind auf die Variabilität zwischen den Genotypen zurückzuführen. Es ist also ziemlich deutlich, dass der Standort einen erheblichen Einfluss auf die Zuckerkonzentrationen in Kulturmöhren hat. Ein deutlicher Einfluss eines der Standorte auf die Zuckerkonzentrationen in der Gesamtheit der untersuchten Genotypen konnte nicht festgestellt werden.

### 5.3.4 Einfluss des Standortes auf die nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe in Karotten

Der Hauptkomponentenanalyse, die in Abbildung 4-4-7 dargestellt ist, kann entnommen werden, dass die zwei ermittelten Werte für neun der zehn untersuchten Genotypen für den Anbau im Gewächshaus einerseits und auf dem Feld andererseits relativ dicht beieinanderliegen. Bei starken äußeren Einflussfaktoren, die mit dem Begriff „Standort“ zusammengefasst sind, auf die Konzentrationen der nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe wären größere Distanzen zu erwarten gewesen.

Eine Ausnahme bildet der Genotyp Deep Purple. Bei ihm ist eine relativ große Distanz bei der Hauptkomponentenanalyse zwischen den beiden unterschiedlichen Anbauarten festzustellen. Diese relativ großen Unterschiede der Ergebnisse zwischen dem Anbau im Gewächshaus und dem Anbau im Freiland sind durch die überraschend hohen Polyacetylenkonzentrationen zu erklären, welche bei den Feldversuchen an beiden Standorten und in den beiden Jahren erreicht wurden. Die starken Unterschiede zwischen den Polyacetylenkonzentrationen bei Aufwuchs im Freiland einerseits und im Gewächshaus andererseits deuten auf eine besondere genetisch bedingte Sensibilität für Umweltbedingungen hin.

Abgesehen von der Sorte Deep Purple zeigen die Ergebnisse der Feldversuche deutlich, dass die beiden untersuchten Einflussfaktoren, der Standort und das Anbaujahr, nicht den



maßgeblichen Einfluss auf die nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe der beobachteten 10 Genotypen haben. Die Verrechnung der nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe der im Gewächshaus unter einheitlichen, definierten Bedingungen angebauten Möhren mit den nicht-flüchtigen Inhaltsstoffen der im Freiland angebauten Möhren desselben Genotyps weist in 9 der 10 Fälle eine geringe Distanz auf. Wird berücksichtigt, dass beim Anbau im Gewächshaus die wesentlichen Einflussfaktoren der unterschiedlichen Standorte und Anbaujahre durch die einheitlichen Bedingungen nahezu eliminiert werden, drängt sich der Schluss auf, dass die Einflussfaktoren Anbauort und Anbaubedingungen zusammen einen deutlich geringeren Einfluss auf die Konzentrationen der nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe in Karotten haben als die spezifischen genetischen Anlagen der unterschiedlichen Genotypen. Durch die Bedingungen an einem konkreten Standort kann die Bildung der nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe in Karotten eines Genotyps in Folge seiner spezifischen Anlagen gefördert oder behindert werden.

#### 5.3.5 Einfluss der Standorte Krakow/Quedlinburg auf die Konzentration nicht-flüchtiger Inhaltsstoffe

Bei einer Gesamtbetrachtung der Ergebnisse kann die Vermutung geäußert werden, dass der Standort Krakow tendenziell besser für den Karottenanbau geeignet ist als der Standort Quedlinburg.

Allerdings spricht nach den Ergebnissen der Feldversuche viel dafür, dass eine generelle Aussage hinsichtlich der Eignung eines Standortes für den Anbau von Karotten schlechthin nicht getroffen werden kann. Maßgeblich ist der spezifische genetische Einfluss des jeweiligen Genotyps auf die Bildung nicht-flüchtiger Inhaltsstoffe. Dazu gehört auch die Reaktion der unterschiedlichen Genotypen auf die konkreten Standortbedingungen, die maßgeblich genetisch beeinflusst ist.

#### 5.4 Ontogeneseversuche

Ziel der beiden Ontogeneseversuche war es, die Entwicklung der Konzentration von Carotinoiden und Polyacetylenen in je zwei Genotypen von Wild- und Kulturmöhren sowie zusätzlich auch von Zucker in den beiden Kulturmöhrengenotypen über den gesamten Wachstumsprozess zu ermitteln. Damit sollten Rückschlüsse auf die Biosynthesezeitpunkte in der Pflanze, speziell der Wurzel, ermöglicht werden. Ferner sollte durch exogenen Kältestress beobachtet werden, ob die Pflanzen Stressreaktionen durch Veränderung des Inhaltsstoffspektrums zeigen.

Da beide Versuche in Klimakammern unter konstanten Bedingungen und unter vollständigem Ausschluss von äußeren Umweltfaktoren durchgeführt werden konnten, wurden umweltbedingte Einflussfaktoren auf das Wachstum wie schwankende Temperaturen, Regen, Trockenheit oder biotischer oder abiotischer Stress ausgeschlossen. Dies lässt den Schluss zu, dass Unterschiede in den Konzentrationen der untersuchten Zielsubstanzen in den Genotypen ausschließlich vom Genotyp, also der genetischen Veranlagung abhängig sind.

Durch die Wahl der Tageshöchsttemperatur von 20 °C in den Klimakammern wurde der Untersuchung von Banga und De Bruyn Rechnung getragen, dass das Gleichgewicht des Karottenstoffwechsels bei unter 20 °C zugunsten der Proteine und über 20 °C zugunsten der Carotinoide verschoben wird [Banga und De Bruyn, 1964]. Infolge des Gleichgewichts des Karottenstoffwechsels, der bei dieser Versuchsanordnung zu erwarten ist, kann davon ausgegangen werden, dass die Carotinoidbildung nicht durch die Temperatur beeinflusst wurde.

Die Wahl der Bodenmischung, welche durch eine festgelegte Zusammensetzung reproduzierbar war, trug einer Erkenntnis von Mehwald aus dem Jahr 1965 Rechnung. Dieser fand heraus, dass der Boden einen signifikanten Einfluss auf die Carotinoidkonzentration hat [Mehwald, 1965]. Wenn also ein Einfluss der Bodenmischung auf die Karotten und somit auf die Carotinoidkonzentration bestand, wurde dieser durch die reproduzierbare Bodenmischung nivelliert und galt für alle in den beiden Ontogeneseversuchen untersuchten Pflanzen.

Die Wahl der zwei wirtschaftlich bedeutenden Sorten 'Nevis' und 'Rotin' als Vertreter für die Kulturmöhren trug deren wirtschaftlicher Bedeutung im Agrarsektor Rechnung.

#### 5.4.1 Zeitpunkte der Carotinoidsynthese in den Sorten 'Nevis' und 'Rotin'

Wie den Abbildungen in Kapitel 4.5.1.1 zu entnehmen ist, sind die Carotinoidkonzentrationen in den ersten fünf Wachstumswochen bzw. zu den ersten vier Ernteterminen deutlich erhöht, gefolgt von einem starken Abfall. Dies ist damit zu erklären, dass die Karottenwurzeln in diesen Stadien nicht ausreichend Biomasse für eine Einzelpflanzenanalytik aufgebaut hatten und somit Mischproben aus Blättern und Wurzeln untersucht wurden. Somit wurden die Ergebnisse durch die in den Blättern enthaltenen Carotinoide verfälscht. Erst ab der 7. Wachstumswoche sind in der Analyse ausschließlich die Karottenwurzeln separat erfasst.

Ausgehend von Habben, welcher 1972 ermittelte, dass vor allem der Reifezustand den stärksten Einfluss auf den Carotinoidgehalt in Karotten hat, während Boden, Witterung und Anbauzeitpunkt alle denselben Einfluss auf die Carotinoidkonzentration haben [Habben, 1972], wurden die Karotten bis deutlich über ihr Vollreifestadium hinaus kultiviert, um diese Aussage zu überprüfen. Es stellte sich bei der Sorte 'Nevis' heraus, dass nach der 15. Woche der  $\beta$ -Carotinoidgehalt deutlich abnahm, während dieser bei der Sorte 'Rotin' weiterhin konstant anstieg. Somit kann die Aussage von Habben nur für die Sorte 'Nevis' bestätigt werden, während bei der Sorte 'Rotin' dieser Effekt nicht beobachtet werden konnte. Die Annahme von Habben ist daher auf die von ihm untersuchten Karottensorten zu relativieren. Einer für alle Karotten gültigen Aussage, dass der Reifezustand den stärksten Einfluss auf den Carotinoidgehalt in Karotten hat, stehen die hier hinsichtlich der Sorte 'Nevis' festgestellten Ergebnisse entgegen. Es kann vielmehr angenommen werden, dass der maximale Carotinoidgehalt sortenspezifisch zu unterschiedlichen Zeitpunkten anfällt. Dies dürfte Einfluss auf den optimalen Erntezeitpunkt dann haben, wenn der Carotinoidgehalt, wie bei der Sorte 'Nevis', nach den regelmäßigen Erntezeitpunkten abnimmt.

Beide Genotypen der Kulturmöhren verhielten sich in Bezug auf die Entwicklung der Carotinoidgehalte während des Wachstumsprozesses sehr einheitlich. Die Gehalte stiegen, wie schon 1964 von Banga und De Bruyn beschrieben, bis zum Stadium der Vollreife an [Banga und De Bruyn, 1964]. In Bezug auf die Absolutgehalte sind jedoch deutliche Unterschiede zwischen den beiden Sorten 'Nevis' und 'Rotin' zu beobachten. Diese Beobachtung baut auf der Erkenntnis von Simon und Wolff aus dem Jahr 1987 auf, welche besagt, dass der Einflussfaktor Sorte auf den Carotinoidgehalt deutlich ist und dass es eine große genetische Spannweite allein in den orangenen Karotten, die durch den Menschen dem höchsten züchterischen Einfluss unterliegen, gibt [Simon und Wolff, 1987].

Die Aussage von Baranska et al. aus dem Jahr 2006, wonach während des Reifeprozesses der Gehalt an  $\alpha$ -Carotin im Gegensatz zum  $\beta$ -Carotin abnimmt, da das  $\alpha$ -Carotin hauptsächlich in jungen Pflanzen vorkommt und somit der Quotient von  $\alpha$ - zu  $\beta$ -Carotin als vergleichender Reifeindikator genutzt werden kann [Baranska et al., 2006], konnte für die beiden Sorten 'Nevis' und 'Rotin' nicht bestätigt werden. Es ist zwar korrekt, dass der  $\beta$ -Carotingehalt mit dem Grad der Reife deutlich zunimmt, aufgrund der Datenlage des Ontogeneseversuchs muss jedoch davon ausgegangen werden, dass der  $\alpha$ -Carotingehalt während des Wachstumsprozesses zunimmt, nicht aber abnimmt.

Die großen Standardabweichungen, welche bei den Analyseergebnissen bezüglich des  $\beta$ -Carotingehalts für beide Sorten zu beobachten waren, sind durch die Einzelpflanzenanalytik

von je fünf Pflanzen und dem daraus gebildeten Mittelwert zu erklären. Die Schwankungen der  $\beta$ -Carotinkonzentrationen innerhalb des Genotyps lassen zum einen den Schluss zu, dass auch bei züchterisch hoch entwickelten Sorten eine genetisch bedingte Varianz der Einzelpflanzen bei der Ausbildung von  $\beta$ -Carotin besteht. Zum anderen drängt sich der Schluss auf, dass die Ausprägung der Varianz ihrerseits wieder sortenspezifisch und damit genetisch geprägt ist.

Genaue Synthesezeitpunkte für die Biosynthesen der Carotinoide konnten nicht gefunden werden. Es zeigte sich allerdings, dass die  $\beta$ -Carotinkonzentrationen während des Reifeprozesses deutlich zunehmen, die Lutein- und  $\alpha$ -Carotinkonzentrationen in deutlich niedrigeren Konzentrationsbereichen angesiedelt sind und sie ebenso wie das  $\beta$ -Carotin während des Reifeprozesses zunehmen.

#### 5.4.2 Synthesezeitpunkte der Polyacetylene in den Sorten 'Nevis' und 'Rotin'

Bei der Betrachtung der Polyacetylenkonzentrationen während des Wachstums der Sorten 'Nevis' und 'Rotin' fiel besonders auf, dass die Polyacetylenkonzentrationen erst ab der 7. Wachstumswoche, also mit Beginn der Einzelpflanzenanalytik, deutlich anstiegen. Dies ließ den Schluss zu, dass in den Karottenblättern deutlich weniger Polyacetylene gebildet werden als in den Wurzeln. Diese Annahme wird durch die Ergebnisse der Untersuchungen des Blatt- und Wurzelmaterials auf Polyacetylene bestätigt. Sie sind in den Abbildungen A-7-21 bis A-7-26 im Anhang dargestellt. Daraus wird erkennbar, dass die Blätter bei beiden Sorten deutlich niedrigere Polyacetylenkonzentrationen aufwiesen als die dazugehörigen Wurzeln, es sich jedoch beim FaDOH-3-Acetat genau umgekehrt verhält. Auffällig ist außerdem, dass sowohl im Keimblatt- als auch im Keimblattstadium recht hohe Gehalte an FaDOH und auch an FaOH auftreten.

Die Schwankungen, welche über den gesamten Wachstumsprozess innerhalb der Polyacetylenkonzentrationen und zwischen den Sorten 'Rotin' und 'Nevis' zu beobachten sind, wurden durch Kidmose et al. im Jahr 2004 erklärt. Sie zeigten, dass die Schwankungen im Gehalt an Polyacetylenen in orangenen Karotten abhängig sind vom Genotyp, von den Anbaubedingungen sowie biotischem und abiotischem Stress [Kidmose et al., 2004]. Eine weitere Ursache für die schwankenden Polyacetylengehalte ist, dass Polyacetylene während des Wachstumsprozesses der Karotten gebildet werden und somit der Zeitpunkt der Probennahme/Ernte bzw. der Analyse einen großen Einfluss auf die gemessene Konzentration der Polyacetylene hat. Dies gilt sowohl für einen Vergleich zwischen den verschiedenen Genotypen als auch für die Polyacetylengehalte in den einzelnen Genotypen sowie die absoluten Polyacetylengehalte in den einzelnen Pflanzen [Christensen und

Kreutzmann, 2007; Kreutzmann et al., 2008(a); Kidmose et al., 2004; Lund und Marion, 1990; Lund und Bruemmer, 1991]. Die vorliegenden Versuche haben gezeigt, dass ausgehend von hohen Konzentrationen an Polyacetylenen diese im Laufe der Wurzelreife abnehmen. Diese Beobachtung lässt sich durch das Fehlen von biotischem und abiotischem Stress für die Pflanze erklären. Die zum Wachstumsbeginn hohen Polyacetylenkonzentrationen könnten auch deshalb reduziert worden sein, weil der Wurzelkörper an Biomasse und Volumen zugenommen hat und somit deutlich weniger empfindlich ist als die junge Pflanze. Wahrscheinlicher ist jedoch, dass die Pflanze wegen der fehlenden natürlichen Stresseinflüsse die Polyacetylenkonzentrationen in der Karottenwurzel reduziert. Wie der plötzliche Anstieg zu erklären ist, welcher sich in der 16. Wachstumswoche bei der Sorte 'Rotin' zeigt, bleibt offen.

Die Ursache für die relative Abnahme der Polyacetylenkonzentrationen in den Wurzeln im Lauf des Wachstums könnte auch darauf zurückzuführen sein, dass nach den Untersuchungen von Christensen und Brandt 2006, Baranska et al. 2005 und Baranska und Schulz 2005, Falcarindiol verstärkt in der Schale und in den äußeren Bereichen des Phloems lokalisiert wurde [Christensen und Brandt, 2006; Baranska et al., 2005; Baranska und Schulz, 2005]. Selbst wenn die Konzentrationen an Falcarindiol in der Schale und im äußeren Bereich des Phloems relativ gleich blieben, würde sich der Gehalt an Falcarindiol bei einer Analyse der Gesamtbiomasse der Karottenwurzel im Laufe des Wachstums relativ verringern, denn die Oberfläche der Wurzel wächst im Verhältnis zur Biomasse nicht proportional mit, sodass gleichbleibende Falcarindiolgehalte der Schale und des äußeren Phloems durch die stärker wachsenden Bereiche des inneren Phloems und Xylems relativiert werden.

Wie den Abbildungen in Kapitel 4.5.1.2 zu entnehmen ist, war das Falcarindiol in beiden Genotypen das Polyacetylen mit den höchsten Konzentrationen in der Karottenwurzel. Diese Beobachtung bestätigt die Erkenntnisse von Czepa, Kidmose und Lund, die herausfanden, dass in ungeschälten Karotten das Falcarindiol das Polyacetylen mit der höchsten Konzentration sei [Kidmose et al., 2004; Czepa und Hofmann, 2004; Lund und Marion, 1990; Lund und Bruemmer, 1991].

Auch in Bezug auf die Polyacetylenkonzentrationen konnten relativ große Schwankungen innerhalb von fünf Einzelproben eines Genotyps beobachtet werden. Dies entspricht den Erkenntnissen von Kreutzmann et al. aus dem Jahr 2007. Danach treten innerhalb der Karottenproben desselben Genotyps deutliche Unterschiede im Polyacetylgehalt sowohl bei Karottenschalen als auch bei geschälten Karottenproben auf. Angesichts der guten Reproduzierbarkeit ihrer HPLC-Methoden gingen Kreutzmann et al. davon aus, dass der

Ursprung der Konzentrationsschwankungen in den Karottenproben nicht auf einen systematischen Fehler in der Analysemethode, sondern auf die Unterschiede im Karottenmaterial selbst zurückzuführen war. Sie schlossen daher, dass der Polyacetylgehalt innerhalb eines Genotyps bei gleichen Anbaukonditionen von Karotte zu Karotte schwankt [Christensen und Kreutzmann, 2007(a)]. Diese Schlussfolgerung findet durch die Ergebnisse dieses Ontogeneseversuchs Bestätigung. Basierend auf dieser Erkenntnis ist es notwendig, neben den zuvor erwähnten Einflussfaktoren auf den Polyacetylgehalt in Karotten wie z. B. Standort, Genotyp und Anbaubedingungen auch den Faktor der nach dem Genotyp spezifischen, individuellen Konzentrationsschwankungen in zukünftige Überlegungen mit einzubeziehen.

Hinsichtlich des wirtschaftlichen Aspektes von Polyacetylgehalten in Kulturmöhren, also des Bitterstoffgehaltes in modernen, durchgezüchteten Sorten, zeigte sich, dass beide Sorten 'Nevis' und 'Rotin' zum Zeitpunkt der Vollreife deutlich reduzierte Gehalte an Polyacetylenen im Verhältnis zum Wachstumsbeginn (7. Woche) aufwiesen.

Zu den Zeitpunkten der Bildung von Polyacetylen in den beiden Kulturmöhrensorten 'Nevis' und 'Rotin' ergibt sich die Erkenntnis, dass die Polyacetylgehalte zum einen ganz deutlich vom Wachstumsstadium, jedoch nicht vom Kältestress abhängig sind. Außerdem ist festzustellen, dass auch vollständig durchgezüchtete Kulturmöhren wie die Sorten 'Nevis' und 'Rotin' nicht frei von Polyacetylenen sind.

Schließlich folgt aus dem Ontogeneseversuch die Erkenntnis, dass es sinnvoll ist, die Karotten der beiden Sorten 'Nevis' und 'Rotin' kurz vor der Vollreife, spätestens aber zur Vollreife und nicht erst mit einiger Verzögerung, zu ernten, da in diesem Stadium die Polyacetylenkonzentrationen noch relativ gering sind.

#### 5.4.3 Zuckersynthesezeitpunkte in den Sorten 'Nevis' und 'Rotin'

Die Betrachtung der Zuckerontogenese startet wegen fehlenden Probenmaterials erst ab der 3. Woche nach der Aussaat. Die Feststellungen von Hasselbringer, Phan et al. und Werner wurden hinsichtlich der Zunahme des Verhältnisses von Saccharose zu den reduzierenden Zuckern mit der Reife bestätigt. Diese hatten darüber hinaus ermittelt, dass diese Verhältnisse während der sich anschließenden Ernte und Lagerung wieder abnimmt [Hasselbring, 1927; Phan et al., 1973; Phan et al., 1973; Werner, 1941]. Mangels Lagerversuchen kann zu diesem Teil der Feststellungen keine Aussage getroffen werden. Auffällig ist jedoch, dass die Saccharose-, Glucose- und Fructosegehalte in den beiden Sorten 'Nevis' und 'Rotin' nach dem induzierten Kältestress von zwei Wochen deutlich

abfallen. Dies könnte zum einen dadurch erklärt werden, dass die Pflanzen nach der Vernalisationsphase die Mono- und die Disaccharide aus der Speicherwurzel in das Blattwerk zum Aufbau von Gerüstsubstanz, also Cellulose, transportieren. Für diese Annahme spricht, dass die Karotte ein zweijähriges Doldenblütlergewächs ist und nach dem ersten Jahr, in welchem eine Speicherwurzel ausgebildet wird, diese zugunsten des Größenwachstums, der Ausbildung von Blüten und letztendlich von Samen abbaut. Durch den induzierten Kältestress wurde für die Pflanzen die natürliche Kältephase des Winters simuliert, sodass die Pflanzen nach der Kältephase zu schossen beginnen und somit Cellulose aufbauen. Gegen die Annahme spricht allerdings, dass die künstlich induzierte Vernalisation für gewöhnlich mehr als sechs Wochen Kälte erfordert. Als andere Erklärung für einen möglichen Abbau der Zucker kämen die Feststellungen von Hasselbringer, Phan et al. und Werner zur Abnahme des Zuckergehaltes während der Ernte und Lagerung in Betracht. Bei dieser Betrachtung wäre die Karottenwurzel nach dem induzierten Kältestress schon überreif und würde beginnen die Zucker zu „veratmen“.

Eine Doppelbestimmung zu den ersten sieben Ernteterminen war aufgrund fehlenden Probenmaterials nicht möglich und auch nicht zwingend erforderlich, da die verwendete Zuckeranalytik sehr robust ist.

Die relativ geringen Zuckerkonzentrationen zum Zeitpunkt der Vollreife, welche nicht den in der Literatur zu findenden Konzentrationen von ca. 4,8 % entsprechen, sind mit der Kultivierungsart in den Klimakammern zu erklären. So ist es nicht verwunderlich, dass Karotten im Freiland deutlich höhere Zuckerkonzentrationen erzielen können, da diese z. B. durch Trockenheit deutlich erhöht werden können, während bei einer Kultivierung in Klimakammern zu jeder Zeit optimale Bedingungen für die gesamte Karottenpflanze herrschen. Ein weiteres Argument für die geringen Zuckergehalte sind die verwendeten Sorten. Zwar handelt es sich bei den Sorten 'Nevis' und 'Rotin' um durchgezüchtete Kulturmöhren, doch finden sich bei den durchschnittlichen Zuckerkonzentrationen auch keine Sortenangaben. Somit kann es durchaus sein, dass die beiden verwendeten Sorten aufgrund ihres genetischen Hintergrund geringere Mengen Zucker produzieren. Diese Überlegung kann durch die Ergebnisse des ersten Assoziationsversuchs, in welchem die beiden Sorten 'Nevis' und 'Rotin' ebenfalls untersucht wurden, bestätigt werden. Bei dem ersten Assoziationsversuch zeigten die beiden Sorten 'Nevis' und 'Rotin' unterdurchschnittliche Zuckergehalte auf.

Auch bei den Zuckern konnten keine festen Synthesezeitpunkte ausgemacht werden. Was jedoch erstaunlich erscheint, ist, dass der induzierte Kältestress anscheinend einen Einfluss auf die Saccharosekonzentration in den Karottenwurzeln hat.

#### 5.4.4 Korrelation zwischen Inhaltsstoffen in Blatt und Wurzel in den Sorten 'Nevis' und 'Rotin'

Eine signifikante Korrelation zwischen den nicht-flüchtigen Inhaltsstoffen in den Karottenwurzeln und den flüchtigen Inhaltsstoffen in den Karottenblättern besteht offensichtlich nicht. Dies kann der Tabelle A-7-1 im Anhang deutlich entnommen werden. Damit entfällt die Möglichkeit, mithilfe einer beschleunigten Analytik von Blattmaterial einen Vorernteindikator für die Abschätzung der Gehalte von nicht-flüchtigen Inhaltsstoffen in den Karottenwurzeln zu entwickeln. Werden jedoch die Ergebnisse der Analytik auf nicht-flüchtige Inhaltsstoffe im Blatt und nicht-flüchtige Inhaltsstoffe in der Wurzel genauer betrachtet, so wird erkennbar, dass bei keinem der Inhaltsstoffe in den jeweiligen Ontogenesestadien annähernd feste Verhältnisse zwischen den Konzentrationen im Blatt und in der Wurzel auszumachen sind. Was außerdem ins Auge fällt sind die z. T. großen Unterschiede in den Konzentrationen der Inhaltsstoffe zwischen Blatt und Wurzel. So ist gut erkennbar, dass die Polyacetylene FaOH und FaDOH deutlich höhere Konzentrationen in der Wurzel als im Blatt aufweisen, wohingegen das FaDOH-3-Acetat eher höhere Konzentrationen im Blatt aufweist. Dies ist möglicherweise mit der fungiziden und mykotoxischen Wirkung der Polyacetylene zu begründen, die die Karottenwurzel vor Fressfeinden schützen soll. Was jedoch die hohen Konzentrationen des FaDOH-3-Acetats in den Blättern zu bedeuten haben, bleibt offen.

Auch in Bezug auf die Zucker finden sich in der Karottenwurzel deutlich höhere Konzentrationen als im Blatt, dies ist durch die Speicherfunktion der Wurzel zu erklären, welche als Energiereserve für die spätere Ausbildung von Blüten und Samen dient.

Bei den Carotinoidkonzentrationen ist das Verhältnis zwischen Blatt und Wurzel nicht so eindeutig ausgeprägt. Infolge der Maskierung der Carotinoide durch das Chlorophyll sind die Carotinoide im Blatt mit dem bloßen Auge nicht erkennbar. So schwankt die Verteilung zwischen Blatt und Wurzel bei der Sorte 'Nevis' deutlich, während bei der Sorte 'Rotin' das Lutein besonders in den Blättern,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin mit zunehmender Reife eher in den Wurzeln in höheren Konzentrationen auftreten. Zwar sind sowohl im Blatt (bis auf Lutein) als auch in der Karottenwurzel relativ hohe Gehalte an Carotinoiden zu lokalisieren, aber zwischen beiden Pflanzenbestandteilen bestehen keine Korrelationen. Dies lässt den Schluss zu, dass es sich um zwei unterschiedliche Biosynthesewege handelt.



#### 5.4.5 Synthesezeitpunkte der Carotinoide in den Genotypen DAL 377/00-10 und GRCGGB 11057

Wie aus den Abbildungen in Kapitel 4.5.2.1 zu den Carotinoidkonzentrationen in den beiden Wildmöhrengenotypen hervorgeht, sind besonders zu den ersten drei Erntezeitpunkten, d. h. den ersten vier Wachstumswochen, für den Genotyp GRCGGB 11057 und einen Erntezeitpunkt bzw. eine Woche später für den Genotyp DAL 377/00-10 bei beiden Genotypen relativ hohe Carotinoidkonzentrationen zu beobachten. Dies ist dadurch zu erklären, dass zu diesem Zeitpunkt aufgrund von zu geringen Biomassen der Karottenwurzeln Mischproben aus Blatt- und Wurzelmaterial untersucht wurden. Die Verwendung von Mischproben war, wie in den Abbildungen gekennzeichnet, bis zur 7. Wachstumswoche notwendig. Gleichwohl weisen nur die ersten drei Ertestadien hohe Carotinoidkonzentrationen auf. Das liegt daran, dass zu diesen drei ersten Erntezeitpunkten die Karottenwurzeln nur Fadenwurzeln waren und der Hauptanteil der Mischprobe das Blattmaterial ausmachte. Wie schon zuvor besprochen, enthalten die Blätter der Karotten, maskiert durch das Chlorophyll, Carotinoide. In Bezug auf die beiden Wildmöhrengenotypen ist davon auszugehen, dass die hohen Carotinoidkonzentrationen hauptsächlich aus den Karottenblättern und nur zu einem sehr geringen Anteil aus den Wurzeln stammen. Ab der 4. Woche nimmt für den Genotyp GRCGGB 11057 die Biomasse der Wurzel zu und damit auch deren Anteil an der Mischprobe, sodass die Carotinoidkonzentrationen den Bereich erreichen, in welchem sie sich bis zur finalen Ernte auch weiterhin bewegen. Ein identisches Phänomen ist bei dem Genotyp DAL 377/00-10 eine Wachstumswoche später zu beobachten.

Zu den sich anschließenden Erntezeitpunkten konnten nur noch verschwindend geringe Carotinoidkonzentrationen festgestellt werden. Dies ist, wie sich aus den Ergebnissen des 2. Assoziationsversuches zeigt, bei fast allen Wildkarottengenotypen gleich. Daraus resultiert wiederum die größtenteils weiße Farbe der Wildmöhren. Die Wildkarotten, welche nicht vom Menschen züchterisch beeinflusst wurden und somit keine Selektion nach Farbe, Wurzelgröße und Zuckergehalt erfahren haben, weisen möglicherweise gerade aus diesem Grund so geringe Carotinoidkonzentrationen in den Wurzeln auf.

Auch für die beiden Wildgenotypen war eine genaue Bestimmung der Biosynthesezeitpunkte für die Carotinoide nicht möglich. Festgestellt werden konnte, dass beide untersuchten Wildmöhrengenotypen Carotinoide enthalten, die immerhin in sehr geringen Konzentrationen nachgewiesen werden konnten.

#### 5.4.6 Synthesezeitpunkte der Polyacetylene in den Genotypen DAL 377/00-10 und GRCGGB 11057

Aus den Abbildungen zu den Polyacetylenkonzentrationen während des Wachstumsprozesses der beiden Wildmöhrengenotypen DAL 377/00-10 und GRCGGB 11057 ist deutlich zu erkennen, dass bei beiden Genotypen nach der Umstellung der Analyse von Mischproben auf Einzelpflanzenanalytik die Gehalte aller drei Polyacetylene deutlich ansteigen. Dies lässt den Schluss zu, dass die höchsten Polyacetylenkonzentrationen innerhalb der Karottenpflanze in den Karottenwurzeln lokalisiert sind.

Während für den Genotyp DAL 377/00-10 die Polyacetylenkonzentrationen zuerst deutlich ansteigen, um anschließend zu sinken, bis sie zum Zeitpunkt der finalen Ernte wiederum leicht ansteigen, sinken beim Genotyp GRCGGB 11057 die Polyacetylengehalte zuerst deutlich, bis sie zum Zeitpunkt der finalen Ernte sprunghaft ansteigen. Diese Schwankungen in den Polyacetylengehalten sind, da die gesamte Ontogenese studie unter konstanten Bedingungen durchgeführt wurde, nicht auf äußere Einflüsse wie Boden, Klima oder biotischen oder abiotischen Stress zurückzuführen. Vielmehr verdeutlichen sie sehr anschaulich die z. T. starken Konzentrationsschwankungen während des Wachstums eines Genotyps, welche darüber hinaus auch noch von Pflanze zu Pflanze z. T. sehr groß sein können. Wie bereits im zweiten Assoziationsversuch dargelegt, sind die Standardabweichungen hinsichtlich der Gehalte an untersuchten Polyacetylenen bei den untersuchten 104 Wildmöhrengenotypen zum Teil extrem und erreichen Werte von 90,59 mg/100 g FM (siehe Tabelle 4.3.3). Ein weiterer Erklärungsansatz für diese z. T. starken Schwankungen innerhalb eines Genotyps aus den Wildmöhren ist, dass es sich bei diesem Material um Wildmaterial handelt, welches keinem menschlichen, züchterischen Einfluss ausgesetzt war und somit auch noch nicht in Bezug auf spezielle Inhaltsstoffgehalte beeinflusst wurde. Die natürlichen Variationen bei Konzentrationen der Inhaltsstoffe in einem Genotyp sind unbeeinflusst geblieben und zeigen sich in ganzer Bandbreite.

Die von Baranska und Schulz sowie von Schulz durchgeführten Screeningstudien von unterschiedlichen Genotypen, welche ergaben, dass der Gehalt von Polyacetylenen in den Wildformen von Möhren deutlich höher liegt als in den kultivierten Karotten [Baranska und Schulz, 2005; Schulz, 2005], fanden in den beiden durchgeführten Ontogeneseversuchen nur teilweise Bestätigung. So konnte zwar festgestellt werden, dass die Konzentrationen des mengenmäßig am deutlichsten auftretenden Polyacetyls FaDOH im Endstadium des Wachstums innerhalb der hier untersuchten Gruppe an Genotypen bei den Wildmöhren über denen der Kulturmöhren lagen. In Bezug auf die Maximalkonzentrationen trifft dies allerdings

nicht zu. So zeigten sich für den Genotyp DAL 377/00-10 FaDOH-Maximalkonzentrationen von 15,50 mg/100 g FM, für den Genotyp GRCGGB 11057 maximale FaDOH-Konzentrationen von 23,49 mg/100 g FM, während für die Sorten 'Nevis' FaDOH-Maximalkonzentrationen von 26,05 mg/100 g FM und für die Sorte 'Rotin' maximale FaDOH-Konzentrationen von 19,72 mg/100 g FM ermittelt wurden. Die Annahmen von Baranska und Schulz aus 2005 und Schulz 2005 werden daher relativiert werden müssen.

Auch bei den Polyacetylenkonzentrationen konnten keine festen Synthesezeitpunkte für die Biosynthese der Polyacetylene ermittelt werden. Es wird jedoch erkennbar, dass nicht nur die Schwankungen zwischen den Genotypen mitunter recht groß sind, sondern besonders bei den Wildmöhren die Schwankungen der Polyacetylengehalte zwischen den Einzelpflanzen eines Genotyps z. T. erheblich sind.

6 Literaturverzeichnis

- Aguedo, M., Ly, M. H., Belo, I., Teixeira, J. A., Belin, J. M. and Wache, Y. (2004). "The use of enzymes and microorganisms for the production of aroma compounds from lipids." *Food Technology and Biotechnology*, 42(4), 327-336.
- Aharoni, A., Giri, A. P., Verstappen, F. W. A., Berteau, C. M., Sevenier, R., Sun, Z. K., Jongsma, M. A., Schwab, W. and Bouwmeester, H. J. (2004). "Gain and loss of fruit flavor compounds produced by wild and cultivated strawberry species." *Plant Cell*, 16(11), 3110-3131.
- Alabran, D. M. and Mabrouk, A. F. (1973). "Carrot Flavor - Sugars and Free Nitrogenous Compounds in Fresh Carrots." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 21(2), 205-208.
- Alasalvar, C., Grigor, J. M. and Quantick, P. C. (1999). "Method for the static headspace analysis of carrot volatiles." *Food Chemistry*, 65(3), 391-397.
- Alasalvar, C., Al-Farsi, M., Quantick, P. C., Shahidi, F. and Wiktorowicz, R. (2005). "Effect of chill storage and modified atmosphere packaging (MAP) on antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, phenolics and sensory quality of ready-to-eat shredded orange and purple carrots." *Food Chemistry*, 89(1), 69-76.
- Alasalvar, C., Grigor, J. M., Zhang, D., Quantick, P. C. and Shahidi, F. (2001). "Comparison of Volatiles, Phenolics, Sugars, Antioxidant Vitamins, and Sensory Quality of Different Colored Carrot Varieties." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), 1410-1416.
- Albert, K. (1998). "Correlation between chromatographic and physicochemical properties of stationary phases in HPLC: C-30 bonded reversed-phase silica 15." *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 17(10), 648-658.
- Alpermann, M. H. (2006). "Untersuchungen zum Alternativen Terpenbiosyntheseweg in *Escherichia coli* und *Nicotiana benthamiana*." Dissertation Universität Halle, FB Pharmazie.
- Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB (vormals § 35 LMBG), Band I, L 26.26-18, Enzymatische Bestimmung des Saccharosegehaltes in Gemüsesäften – Spektralphotometrisches Verfahren mit NADP, Stand: September 1997
- Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB (vormals § 35 LMBG), Band I, L 31.00-12, Enzymatische Bestimmung der Gehalte an D-Glucose und D-Fructose in Frucht- und Gemüsesäften – spektralphotometrische Bestimmung von NADPH, Stand: Januar 1997
- Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB (vormals § 35 LMBG), Band I, L 00.00-63/2, Untersuchung von Lebensmitteln – Bestimmung von Vitamin A in Lebensmitteln mittels HPLC – Teil 2: Bestimmung von  $\beta$ -Carotin, Stand: Juli 2001
- Arigoni, D., Sagner, S., Latzel, C., Eisenreich, W., Bacher, A. and Zenk, M. H. (1997). "Terpenoid biosynthesis from 1-deoxy-D-xylulose in higher plants by

- intramolecular skeletal rearrangement." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(20), 10600-10605.
- Avalos, J., Fontan, G. P. and Rodriguez, E. (1995). "Simultaneous HPLC Quantification of Two Dermatotoxins, 5-Methoxypsoralen and Falcarinol, in Healthy Celery." *Journal of Liquid Chromatography*, 18(10), 2069-2076.
- Bach, T. J. and Lichtenthaler, H. K. (1983(a)). "Inhibition by Mevinolin of Plant-Growth, Sterol Formation and Pigment Accumulation." *Physiologia Plantarum*, 59(1), 50-60.
- Bach, T. J. and Lichtenthaler, H. K. (1983(b)). "Mechanisms of Inhibition by Mevinolin (MK 803) of Microsome-Bound Radish and of Partially Purified Yeast Hmg-CoA Reductase (Ec.1.1.1.34)." *Zeitschrift für Naturforschung C - Biosciences*, 38(3-4), 212-219.
- Bach, T. J. and Lichtenthaler, H. K. (1987). "Plant-Growth Regulation by Mevinolin and Other Sterol Biosynthesis Inhibitors." In: G. Fuller, Nes, W. D. (eds.), *Ecology and Metabolism of Plant Lipids, Cs Symposium Series 325*, American Chemical Society, Washington, DC, 109-139.
- Bajaj, K. I., Kaur, G. and Sukhija, B. S. (1980). "Chemical-Composition and Some Plant Characteristics in Relation to Quality of Some Promising Cultivars of Carrot (*Daucus-Carota* L)." *Qualitas Plantarum - Plant Foods for Human Nutrition*, 30(2), 97-107.
- Banga, O. and De Bruyn, J. (1964). "Carotenogenesis in carrot roots." *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 12(3), 204-220.
- Banga, O., De Bruyn, J. and Smeets, L. (1955). "Selection of carrots for carotene content. II. Sub-normal content at low temperature." *Euphytica*, 4(2), 183-189.
- Baranska, M. and Schulz, H. (2005). "Spatial tissue distribution of polyacetylenes in carrot root." *Analyst*, 130(6), 855-859.
- Baranska, M., Schulz, H., Baranski, R., Nothnagel, T. and Christensen, L. P. (2005). "In Situ Simultaneous Analysis of Polyacetylenes, Carotenoids and Polysaccharides in Carrot Roots." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(17), 6565-6571.
- Baranska, M., Baranski, R., Schulz, H. and Nothnagel, T. (2006). "Tissue-specific accumulation of carotenoids in carrot roots." *Planta*, 224(5), 1028-1037.
- Barley, G. C., Jones, E. R. H. and Thaller, V. (1988). "Crepenynate as a precursor of falcarinol in carrot tissue culture." In: J. Lam, H. Breteler, T. Arnason and L. Hansen (eds.), *Chemistry and Biology of Naturally-Occurring Acetylenes and Related Compounds (NOARC)*, Bioactive Molecules, vol. 7, Elsevier, Amsterdam, 85-106.
- Beckmann, E. O. and Pestemer, W. (1975). "Einfluss von Herbizidbehandlung bei unterschiedlicher Humusversorgung auf Ertrag und Inhaltsstoffe von Möhren." *Landwirtschaftliche Forschung*, 28(1), 41-51.
- Behr, H. (2010). "AMI-Marktbilanz Gemüse 2010." AMI-Marktbilanzen, Agrarmarkt Informations-Gesellschaft mbH, Bonn, 1-168.

- Belitz, H.-D. and Grosch, W. (1992). "Lehrbuch der Lebensmittelchemie." Springer Verlag, Heidelberg.
- Bentley, R. K., Bhattach, D., Jones, E. R. H. and Thaller, V. (1969). "Natural Acetylenes . 28. C17-Polyacetylenic Alcohols from Umbellifer *Daucus Carota* L. (Carrot) - Alkylation of Benzene by Acetylenyl(Vinyl)Carbinols in Presence of Toluene-P-Sulphonic Acid." *Journal of the Chemical Society C-Organic*, (4), 685-688.
- Bernart, M. W., Cardellina, J. H., Balaschak, M. S., Alexander, M. R., Shoemaker, R. H. and Boyd, M. R. (1996). "Cytotoxic Falcarinol Oxylipins from *Dendropanax arboreus*." *Journal of Natural Products*, 59(8), 748-753.
- Bickel-Sandkötter, S. (2008). "Nutzpflanzen: Kautschuk und andere Isoprenoide." <http://www.uni-duesseldorf.de/MathNat/Biologie/Didaktik/Nutzpflanzen/isopren.pdf> (Stand: 05.05.2010)
- Bochar,D.A.; Friesen,J.A.; Stauffacher,C.V.; Rodwell,V.W. (1999). "Biosynthesis of mevalonic acid from acetyl-CoA." In: D. E. Cane (ed.), *Comprehensive Natural Products Chemistry*. Vol. 2 Isoprenoids Including Carotenoids and Steroids, 15-44.
- Bohlmann, F., Burkhardt, T. and Zdero, C. (1973). "Naturally occurring Acetylenes." Academic Press, London.
- Bohlmann, F., Niedballa, U. and Rode, K.-M. (1966). "Polyacetylenverbindungen, CXVIII. Über neue Polyine mit C17-Kette." *Chemische. Berichte.*, 99(11), 3552-3558.
- Bohlmann, F. (1969). "Natürliche Acetylenverbindungen." *Chemie in unserer Zeit*, 3 (4), 107-110.
- Bohlmann, F. (1988). "Naturally-occurring acetylenes." In: J. Lam, H. Breteler, T. Arnason and L. Hansen (eds.), *Chemistry and Biology of Naturally-Occuring Acetylenes and Related Compounds (NOARC)*, Bioactive Molecules, vol. 7, Elsevier, Amsterdam, 1-19.
- Booth, V. H. and Dark, S. O. S. (1949). "The Influence of Environment and Maturity on Total Carotenoids in Carrots." *Journal of Agricultural Science*, 39(2), 226-236.
- Bramley, P. M. (2000). "Is lycopene beneficial to human health?" *Phytochemistry*, 54(3), 233-236.
- Brandt, K., Christensen, L. P., Hansen-Möller, J., Hansen, S. L., Haraldsdottir, J., Jespersen et al. (2007). "Health promoting compounds in vegetables and fruits: A systematic approach for identifying plant components with impact on human health 1." *Trends in Food Science & Technology*, 15(7-8), 384-393.
- Breithaupt, D. E. (2004). "Simultaneous HPLC determination of carotenoids used as food coloring additives: applicability of accelerated solvent extraction." *Food Chemistry*, 86(3), 449-456.
- Breitmaier, E. (2004). "Terpene." Wiley-VCH Verlag, Weinheim.
- Britton, G. (1995). "Structure and properties of carotenoids in relation to function." *FASEB Journal*, 9(15), 1551-1558.

- Britton, G., Liaaen-Jensen, S. and Pfander, H. P. (2004). "Handbook of Carotenoids." Birkhäuser, Basel.
- Buishand, J. G. and Gabelman, W. H. (1979). "Investigations on the Inheritance of Color and Carotenoid Content in Phloem and Xylem of Carrot Roots (*Daucus carota* L)." *Euphytica*, 28(3), 611-632.
- Buishand, J. G. and Gabelman, W. H. (1980). "Studies on the Inheritance of Root Color and Carotenoid Content in Red X Yellow and Red X White Crosses of Carrot, *Daucus carota* L." *Euphytica*, 29(2), 241-260.
- Bullock, J. D. and Smalley, H. M. (1962). "Biosynthesis of Polyacetylenes .5. Role of Malonate Derivatives, and Common Origin of Fatty Acids, Polyacetylenes, and Acetate-Derived Phenols." *Journal of the Chemical Society*, (NOV), 4662-4670.
- Burdock, G. A. (2002). "Fenaroli's Handbook of Flavour Ingredients." CRC Press, London.
- Burns, J., Fraser, P. D. and Bramley, P. M. (2003). "Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables." *Phytochemistry*, 62(6), 939-947.
- Bushway, R. J. (1985). "Separation of Carotenoids in Fruits and Vegetables by High-Performance Liquid-Chromatography." *Journal of Liquid Chromatography*, 8(8), 1527-1547.
- Buttery, R. G., Seifert, R. M., Guadagni, D. G., Black, D. R. and Ling, L. (1968). "Characterization of some volatile constituents of carrots." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 16(6), 1009-1015.
- Cahoon, E. B., Schnurr, J. A., Huffman, E. A. and Minto, R. E. (2003). "Fungal responsive fatty acid acetylenases occur widely in evolutionarily distant plant families." *The Plant Journal*, 34(5), 671-683.
- Carrotmuseum (2010). "World map of main growing areas." <http://www.carrotmuseum.co.uk/tody.html> (Stand: 05.05.2010).
- Christensen, L. P. (1998). "Biological activities of naturally occurring acetylenes and related compounds from higher plants." *Recent Research Developments in Phytochemistry*, 2(2), 227-257.
- Christensen, L. P. and Brandt, K. (2006). "Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: Occurrence, bioactivity and analysis." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(3), 683-693.
- Christensen, L. P. and Kreutzmann, S. (2007). "Determination of polyacetylenes in carrot roots (*Daucus carota* L.) by high-performance liquid chromatography coupled with diode array detection 10." *Journal of Separation Science*, 30(4), 483-490.
- Christensen, L. P., Jensen, M. and Kidmose, U. (2006). "Simultaneous Determination of Ginsenosides and Polyacetylenes in American Ginseng Root (*Panax quinquefolium* L.) by High-Performance Liquid Chromatography." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(24), 8995-9003.

- Conn, P. F., Schalch, W. and Truscott, T. G. (1991). "The singlet oxygen and carotenoid interaction." *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology*, 11, 41-47.
- Crosby, D. G. and Aharonson, N. (1967). "The structure of carotatoxin, a natural toxicant from carrot." *Tetrahedron*, 23(1), 465-472.
- Crouzet, J. (2000). "Thermal generation of carotenoid-derived aroma compounds." Abstracts of Papers American Chemical Society, 219(1-2), AGFD.
- Crowden, R. K., Harborne, J. B. and Heywood, V. H. (1969). "Chemosystematics of the umbelliferae - a general survey." *Phytochemistry*, 8(10), 1963-1984.
- Cunsolo, F., Ruberto, G., Amico, V. and Piattelli, M. (1993). "Bioactive Metabolites from Sicilian Marine Fennel, *Crithmum maritimum*." *Journal of Natural Products*, 56(9), 1598-1600.
- Czepa, A. and Hofmann, T. (2003). "Structural and Sensory Characterization of Compounds Contributing to the Bitter Off-Taste of Carrots (*Daucus carota* L.) and Carrot Puree." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(13), 3865-3873.
- Czepa, A. and Hofmann, T. (2004). "Quantitative Studies and Sensory Analyses on the Influence of Cultivar, Spatial Tissue Distribution, and Industrial Processing on the Bitter Off-Taste of Carrots (*Daucus carota* L.) and Carrot Products." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(14), 4508-4514.
- Darnoko, D., Cheryan, M., Moros, E., Jerrel, J. and Perkins, E. G. (2000). "Simultaneous HPLC analysis of palm carotenoids and tocopherols using a C-30 column and photodiode array detector." *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 23(12), 1873-1885.
- Dembitsky, V. M. (2006). "Anticancer activity of natural and synthetic acetylenic lipids." *Lipids*, 41(10), 883-924.
- Dewick, P. M. (2002). "Medicinal Natural Products, A Biosynthetic Approach." Chichester: Wiley.
- Di Masco, P., Kaiser, S. and Sies, H. (1989). "Lycopene as the Most Efficient Biological Carotenoid Singulet Oxygen Quencher." *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 274, 532-538.
- Dunemann, F., Ulrich, D., Boudichevskaia, A., Grafe, C. and Weber, W. (2009). "QTL mapping of aroma compounds analysed by headspace solid-phase microextraction gas chromatography in the apple progeny 'Discovery' x 'Prima'." *Molecular Breeding*, 23(3), 501-521.
- Duvold, T., Bravo, J. M., PaleGrosdemange, C. and Rohmer, M. (1997). "Biosynthesis of 2-C-methyl-D-erythritol, a putative C-5 intermediate in the mevalonate independent pathway for isoprenoid biosynthesis." *Tetrahedron Letters*, 38(27), 4769-4772.
- Edelenbos, M., Christensen, L. P. and Grevsen, K. (2001). "HPLC determination of chlorophyll and carotenoid pigments in processed green pea cultivars (*Pisum sativum* L.)." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4768-4774.



- Eisenreich, W., Rohdich, F. and Bacher, A. (2001). "Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids." *Trends in Plant Science*, 6(2), 78-84.
- Emenhiser, C., Englert, G., Sander, L. C., Ludwig, B. and Schwartz, S. J. (1996(a)). "Isolation and structural elucidation of the predominant geometrical isomers of alpha-carotene 16." *Journal of Chromatography A*, 719(2), 333-343.
- Emenhiser, C., Simunovic, N., Sander, L. C. and Schwartz, S. J. (1996(b)). "Separation of geometrical carotenoid isomers in biological extracts using a polymeric C-30 column in reversed-phase liquid chromatography." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(12), 3887-3893.
- Eurostat (2010). <http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page/portal/eurostat/home> (Stand 05.05.2010)
- Evers, A. M. (1989). "Effects of Different Fertilization Practices on the Carotene Content of Carrot." *Journal of Agricultural Science in Finland*, 61(1), 7-14.
- Feller, C.; Bleiholder, H.; Buhr, L.; Hack, H.; Hess, M.; Klose, R.; Meier, U.; Strauss, R.; van den Boom, T. and Weber, E. (1995). "Phänologische Entwicklungsstadien von Gemüsepflanzen: I. Zwiebel-, Wurzel-, Knollen- und Blattgemüse." *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 47, 193-206.
- Fiksdahl, A., Mortensen, J. T. and Liaaen-Jensen, S. (1978). "High-Pressure Liquid-Chromatography of Carotenoids." *Journal of Chromatography*, 157(SEP), 111-117.
- Fikselova, M., Silhar, S., Marecek, J. and Francakova, H. (2008). "Extraction of carrot (*Daucus carota* L.) carotenes under different conditions." *Czech Journal of Food Sciences*, 26(4), 268-274.
- Franke, W. (1997). "Nutzpflanzenkunde: nutzbare Gewächse der gemäßigten Breiten, Subtropen und Tropen." Thieme, Stuttgart.
- Fraser, P. D. and Bramley, P. M. (2004). "The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids." *Progress in Lipid Research*, 43(3), 228-265.
- Fritz, D. and Habben, J. (1977). "Quality of Different Carrot Cultivars As Affected by Harvesting Date." *Gartenbauwissenschaft*, 42(4), 185-190.
- Fujimoto, Y., Sakuma, S., Komatsu, S., Sato, D., Nishida, H., Xiao, Y. Q., Baba, K. and Fujita, T. (1998). "Inhibition of 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase activity in rabbit gastric antral mucosa by panaxynol isolated from oriental medicines." *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 50(9), 1075-1078.
- Garrod, B., Lewis, B. G. and Coxon, D. T. (1978). "Cis-Heptadeca-1,9-Diene-4,6-Diyne-3,8-Diol, An Antifungal Polyacetylene from Carrot Root-Tissue." *Physiological Plant Pathology*, 13(2), 241-246.
- Gershenzon, J. and Croteau, R. B. (1993). "Terpenoid biosynthesis: The basic pathway and formation of monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes." In: Th. S. Moore (ed.), *Lipid Metabolism in Plants*, CRC Press, Boca Raton, 339-388.

- Goodwin, T. W. (1977). "The prenyl lipids of the membranes of higher plants." In: M. Tevini and H. K. Lichtenthaler (eds.), *Lipids and Lipid Polymers in Higher Plants*, Springer-Verlag, Berlin, 29-47.
- Habben, J. (1972). "Influence of Some Environmental Factors on Yield and Quality of Carrots *Daucus-Carota*." *Gartenbauwissenschaft*, 37(5), 345-359.
- Habben, J. (1973). "Influence of Nitrogen and Potassium Fertilization on Yield and Quality of Carrots." *Landwirtschaftliche Forschung*, 26(2), 156-172.
- Habegger, R. and Schnitzler, W. H. (2005). "Aroma compounds of coloured carrots (*Daucus carota* L. ssp. *sativus* Hoffm.)." *Journal of Applied Botany and Food Quality - Angewandte Botanik*, 79(2), 130-135.
- Hadacek, F., Werner, A. and Greger, H. (1988). "Computerized HPLC-Diode Array Screening On Characteristic Acetylene Patterns Within Peucedanum (Umbelliferae-Apioideae)." In: J. Lam, H. Breteler, T. Arnason and L. Hansen (eds.), *Chemistry and Biology of Naturally-Occurring Acetylenes and Related Compounds (NOARC)*, Bioactive Molecules, vol. 7, Elsevier, Amsterdam, 107-114.
- Hahn, A., Ströhle, A. and Wolters, M. (2005). "Ernährung: Physiologische Grundlagen, Prävention, Therapie." Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.
- Hampel, D., Mosandl, A. and Wüst, M. (2005). "Biosynthesis of mono- and sesquiterpenes in carrot roots and leaves (*Daucus carota* L.): metabolic cross talk of cytosolic mevalonate and plastidial methylerythritol phosphate pathways." *Phytochemistry*, 66(3), 305-311.
- Hansen-Moeller, J., Christensen, L. P., Jespersen, S. L., Frokiaer, H., Barkholt, V., Haraldsdottir, J. and Brandt, K. (2002(a)). Proceeding of the international symposium on "Dietary phytochemicals and human health", Salamanca, Spain, 203-204.
- Hansen-Moeller, J., Christensen, L. P., Jespersen, S. L., Frokiaer, H., Barkholt, V., Haraldsdottir, J. and Brandt, K. (2002(b)). Proceeding of the international symposium on "Dietary phytochemicals and human health", Salamanca, Spain, 58-59.
- Hansen, L. and Boll, P. M. (1986(a)). "Polyacetylenes in Araliaceae - Their Chemistry, Biosynthesis and Biological Significance." *Phytochemistry*, 25(2), 285-293.
- Hansen, L. and Boll, P. M. (1986(b)). "The polyacetylenic falcarinol as the major allergen in *schefflera arboricola*." *Phytochemistry*, 25(2), 529-530.
- Hansen, L., Purup, S. and Christensen, L. P. (2003). "Bioactivity of falcarinol and the influence of processing and storage on its content in carrots (*Daucus carota* L)." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(10), 1010-1017.
- Haraldsdottir, J., Jespersen, L., Hansen, M., Hansen, S., Christensen, L. and Brandt, K. (2002). "Recent developments in bioavailability of falcarinol." *DIAS Report, Horticulture*, (29), 15-19.

- Harding, V. K. and Heale, J. B. (1981). "The Accumulation of Inhibitory Compounds in the Induced Resistance Response of Carrot Root Slices to Botrytis - Cinerea." *Physiological Plant Pathology*, 18(1), 7-15.
- Hasselbring, H. E. I. N. (1927). "Carbohydrate transformations in carrots during storage." *Plant Physiology*, 2, 225-243.
- Heilpflanzen-Welt (2010). "*Daucus carota* - viel mehr als nur eine Möhre." [www.heilpflanzen-welt.de/2005-07-Daucus-Carota-viel-mehr-als-nur-eine-Moehre/](http://www.heilpflanzen-welt.de/2005-07-Daucus-Carota-viel-mehr-als-nur-eine-Moehre/) (Stand: 05.05.2010).
- Heinonen, M. I. (1990). "Carotenoids and Provitamin-A Activity of Carrot (*Daucus carota* L) Cultivars." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(3), 609-612.
- Herz, S., Wungsintaweeikul, J., Schuhr, C. A., Hecht, S., Luttgen, H., Sagner, S., Fellermeier, M., Eisenreich, W., Zenk, M. H., Bacher, A. and Rohdich, F. (2000). "Biosynthesis of terpenoids: YgbB protein converts 4-diphosphocytidyl-2C-methyl-D-erythritol 2-phosphate to 2C-methyl-D-erythritol 2,4-cyclodiphosphate." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(6), 2486-2490.
- Heywood, V. H. (1983). "Relationships and Evolution in the *Daucus- Carota* Complex." *Israel Journal of Botany*, 32(2), 51-65.
- Howard, L. R., Braswell, D., Heymann, H., Lee, Y., Pike, L. M. and Aselage, J. (1995). "Sensory Attributes and Instrumental Analysis Relationships for Strained Processed Carrot Flavor." *Journal of Food Science*, 60(1), 145-148.
- Hsieh, Y. P. C. and Karel, M. (1983). "Rapid Extraction and Determination of Alpha-Carotenes and Beta-Carotenes in Foods." *Journal of Chromatography*, 259(3), 515-518.
- Isler, O. (1971). "Carotenoids." Birkhäuser-Verlag, Basel.
- Iwase, H. (2002). "Simultaneous sample preparation for high-performance liquid chromatographic determination of Vitamin A and  $\beta$ -carotene in emulsified nutritional supplements after solid-phase extraction." *Analytica Chimica Acta*, 463(1), 21-29.
- Janes, B. E. (1946). "Variations in the Dry Weight, Ascorbic Acid and Carotene Content of Collards, Broccoli and Carrots As Influenced by Geographical Location and Fertilizer Level." *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 48(DEC), 407-412.
- Jente, R., Olatunji, G. A. and Bosold, F. (1988). "Experiments on biosynthesis and metabolism of acetylenes and thiophenes." In: J. Lam, H. Breteler, T. Arnason and L. Hansen (eds.), *Chemistry and Biology of Naturally-Occuring Acetylenes and Related Compounds (NOARC)*, Bioactive Molecules, vol. 7, Elsevier, Amsterdam, 187-199.
- Johjima, T. and Ogura, H. (1983). "Analysis of Tomato Carotenoids by Thin-Layer Chromatography and A Cis-Form Gamma-Carotene Newly Identified in Tangerine Tomato." *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 52(2), 200-209.

- Just, B. J., Santos, C. A. F., Fonseca, M. E. N., Boiteux, L. S., Oloizia, B. B. and Simon, P. W. (2007). "Carotenoid biosynthesis structural genes in carrot (*Daucus carota*): isolation, sequence-characterization, single nucleotide polymorphism (SNP) markers and genome mapping." *Theoretical and Applied Genetics*, 114(4), 693-704.
- Kahkonen, M., Hopia, A., I, Vuorela, H., Rauha, J., Pihlaja, K., Kujala, T. and Heinonen, M. (1999). "Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954-3962.
- Keller, E. R., Hanus, H. and Heyland, K.-U. (1999). "Handbuch des Pflanzenbaus." Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart.
- Khachik, F., Beecher, G. R. and Whittaker, N. F. (1986). "Separation, Identification, and Quantification of the Major Carotenoid and Chlorophyll Constituents in Extracts of Several Green Vegetables by Liquid-Chromatography." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34(4), 603-616.
- Khachik, F. and Beecher, G. R. (1987). "Application of A C-45-Beta-Carotene As An Internal Standard for the Quantification of Carotenoids in Yellow-Orange Vegetables by Liquid-Chromatography." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35(5), 732-738.
- Khachik, F., Beecher, G. R., Vanderslice, J. T. and Furrow, G. (1988). "Liquid-Chromatographic Artifacts and Peak Distortion - Sample Solvent Interactions in the Separation of Carotenoids." *Analytical Chemistry*, 60(8), 807-811.
- Khachik, F., Beecher, G. R., Goli, M. B. and Lusby, W. R. (1991). "Separation, Identification, and Quantification of Carotenoids in Fruits, Vegetables and Human Plasma by High-Performance Liquid-Chromatography." *Pure and Applied Chemistry*, 63(1), 71-80.
- Kidmose, U., Hansen, S. L., Christensen, L. P., Edelenbos, M., Larsen, E. and Norbaek, R. (2004). "Effects of genotype, root size, storage, and processing on bioactive compounds in organically grown carrots (*Daucus carota* L.)." *Journal of Food Science*, 69(9), 388-394.
- Kimura, M. and Rodriguez-Amaya, D. B. (1999). "Sources of errors in the quantitative analysis of food carotenoids by HPLC." *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 49(3), 58-66.
- Kjeldsen, F., Christensen, L. P. and Edelenbos, M. (2001). "Quantitative Analysis of Aroma Compounds in Carrot (*Daucus carota* L.) Cultivars by Capillary Gas Chromatography Using Large-Volume Injection Technique." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9), 4342-4348.
- Kjeldsen, F., Christensen, L. P. and Edelenbos, M. (2003). "Changes in Volatile Compounds of Carrots (*Daucus carota* L.) During Refrigerated and Frozen Storage." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), 5400-5407.
- Kobaek-Larsen, M. C. L. P., Vach, W., Ritskes-Hoitinga, J. and Brandt, K. (2005). "Inhibitory Effects of Feeding with Carrots on (-)-Falcarinol on Development of Azoxymethane-Induced Preneoplastic Lesions in the Rat Colon." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1823-1827.

- Kobaisy, M., Abramowski, Z., Lerner, L., Saxena, G., Hancock, R. E. W., Towers, G. H. N., Doxsee, D. and Stokes, R. W. (1997). "Antimycobacterial polyynes of Devil's Club (*Oplopanax horridus*), a North American native medicinal plant." *Journal of Natural Products*, 60(11), 1210-1213.
- Kreutzmann, S., Edelenbos, M., Christensen, L. P., Thybo, A. and Petersen, M. A. (2005). "Analysis of aroma compounds from carrots by Dynamic Headspace Technique using different purging and cutting methods." *Development in Food Science*, 43 (Flavour Science - Recent Advances and Trends), 505-508.
- Kreutzmann, S. (2007(a)). "Quality of carrots - A chemical approach to understand the sensory variation." Faculty of Agricultural Sciences, University of Aarhus, Denmark.
- Kreutzmann, S., Christensen, L. P. and Edelenbos, M. (2007(b)). "The Influence of Frozen Storage on Polyacetylenes in carrots (*Daucus carota* L.)." In: Hofmann, T. Meyerhof, W., Rothe, M. and Schieberle, P. (eds.), Recent Highlights in Flavour Chemistry and Biology, Proceedings of the 8th Wartburg Symposium on Flavour Chemistry and Biology, 284-287.
- Kreutzmann, S., Thybo, A. K. and Bredie, W. L. P. (2007(c)). "Training of a sensory panel and profiling of winter hardy and coloured carrot genotypes." *Food Quality and Preference*, 18(3), 482-489.
- Kreutzmann, S., Christensen, L. P. and Edelenbos, M. (2008(a)). "Investigation of bitterness in carrots (*Daucus carota* L.) based on quantitative chemical and sensory analyses." *LWT - Food Science and Technology*, 41(2), 193-205.
- Kreutzmann, S., Svensson, V. T., Thybo, A. K., Bro, R. and Petersen, M. A. (2008(b)). "Prediction of sensory quality in raw carrots (*Daucus carota* L.) using multi-block LS-ParPLS." *Food Quality and Preference*, 19(7), 609-617.
- Kreutzmann, S., Thybo, A. K., Edelenbos, M. and Christensen, L. P. (2008(c)). "The role of volatile compounds on aroma and flavour perception in coloured raw carrot genotypes." *International Journal of Food Science and Technology*, 43(9), 1619-1627.
- Kuzuyama, T., Takagi, M., Kaneda, K., Dairi, T. and Seto, H. (2000(a)). "Formation of 4-(cytidine 5'-diphospho)-2-C-methyl-D-erythritol from 2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate by 2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate cytidyltransferase, a new enzyme in the nonmevalonate pathway." *Tetrahedron Letters*, 41(5), 703-706.
- Kuzuyama, T., Takagi, M., Kaneda, K., Watanabe, H., Dairi, T. and Seto, H. (2000(b)). "Studies on the nonmevalonate pathway: conversion of 4-(cytidine 5'-diphospho)-2-C-methyl-D-erythritol to its 2-phospho derivative by 4-(cytidine 5'-diphospho)-2-C-methyl-D-erythritol kinase." *Tetrahedron Letters*, 41(16), 2925-2928.
- Landrum, J. T. and Bone, R. A. (2001). "Lutein, Zeaxanthin, and the Macular Pigment." *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 385(1), 28-40.
- Law, M. Y. L. and Moody, D. E. (1995). "Simultaneous Quantitation of Amphetamine and 4'-Hydroxyamphetamine by High-Performance Liquid-Chromatography 2." *Journal of Liquid Chromatography*, 18(10), 2029-2043.

- Leclerc, J., Miller, M. L., Joliet, E. and Rocquelin, G. (1991). "Vitamin and Mineral Contents of Carrot and Celeriac Grown Under Mineral Or Organic Fertilization." *Biological Agriculture & Horticulture*, 7(4), 339-348.
- Leja, M., Mareczek, A., Starzynska, A. and Rozek, S. (2001). "Antioxidant ability of broccoli flower buds during short-term storage." *Food Chemistry*, 72(2), 219-222.
- Leja, M., Mareczek, A. and Ben, J. (2003). "Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage." *Food Chemistry*, 80(3), 303-307.
- Lesellier, E., Tchaplal, A., Marty, C. and Lebert, A. (1993). "Analysis of Carotenoids by High-Performance Liquid-Chromatography and Supercritical Fluid Chromatography." *Journal of Chromatography*, 633(1-2), 9-23.
- Lichtenthaler, H. K. and Park, R. B. (1963). "Chemical Composition of Chloroplast Lamellae from Spinach." *Nature*, 198(488), 1070-1072.
- Lichtenthaler, H. K., Schwender, J., Seemann, M. and Rohmer, M. (1996). "Biosynthesis of carotenoids and other isoprenoids via a non-mevalonate pathway in *Scenedesmus obliquus*." *Plant Physiology (Rockville)*, 111(2 SUPPL.), 134.
- Lichtenthaler, H. K., Schwender, J., Disch, A. and Rohmer, M. (1997(a)). "Biosynthesis of isoprenoids in higher plant chloroplasts proceeds via a mevalonate-independent pathway." *FEBS Letters*, 400(3), 271-274.
- Lichtenthaler, H. K., Rohmer, M. and Schwender, J. (1997(b)). "Two independent biochemical pathways for isopentenyl diphosphate and isoprenoid biosynthesis in higher plants." *Physiologia Plantarum*, 101(3), 643-652.
- Lichtenthaler, H. K. (1999). "The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants." *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 47-65.
- Lienau, A. (2003). "Untersuchung zur Anreicherung und Bioverfügbarkeit von bioaktiven Substanzen unter Verwendung der HPLC-NMR und HPLC-MS Kopplung." Dissertation an der Eberhardt-Karls-Universität Tübingen.
- Lin-Vien, D., Colthup, N. B., Fateley, W. G. and Grasselli, J. G. (1991). "The handbook of Infrared and Raman characteristic frequencies of organic molecules." *Academic Press Inc.*, San Diego.
- Loomis W D and Croteau R (1980). "Biochemistry of Terpenoids." In: P. K. Stumpf (ed.) *Lipids, Structure and Function*, Vol. 4 of *The Biochemistry of Plants* (P. K. Stumpf and E. E. Conn, eds.) Academic Press, New York, 363-418.
- Lund, E. D. and Marion, W. J. (1990). "Polyacetylenes in normal and waterstressed 'Orlando Gold' carrots (*Daucus carota* L.)." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 51(4), 507-516.
- Lund, E. D. and Bruemmer, J. H. (1991). "Acetylenic compounds in stored packaged carrots." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54(2), 287-294.
- Lund, E. D. (1992). "Polyacetylenic carbonyl compounds in carrots." *Phytochemistry*, 31(10), 3621-3623.

- Lund, E. D. and Bruemmer, J. H. (1992). "Sesquiterpene hydrocarbons in processed stored carrot sticks." *Food Chemistry*, 43(5), 331-335.
- Lüttgen, H., Rohdich, F., Herz, S., Wungsintaweeikul, J., Hecht, S., Schuhr, C. A., Fellermeier, M., Sagner, S., Zenk, M. H., Bacher, A. and Eisenreich, W. (2000). "Biosynthesis of terpenoids: YchB protein of *Escherichia coli* phosphorylates the 2-hydroxy group of 4-diphosphocytidyl-2C-methyl-D-erythritol." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(3), 1062-1067.
- Maier, M. E. (2010). "Vorlesung Modul OC5 - Naturstoffchemie - Isoprenoide." Universität Tübingen.
- Mangels, A. R., Holden, J. M., Beecher, G. R., Forman, M. R. and Lanza, E. (1993). "Carotenoid content of fruits and vegetables: *An evaluation of analytic data.*" *Journal of the American Dietetic Association*, 93(3), 284-296.
- Manners, G. D., Jacob, R. A., Breksa, Schoch, T. K. and Hasegawa, S. (2003). "Bioavailability of Citrus Limonoids in Humans." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(14), 4156-4161.
- Marx, M., Schieber, A. and Carle, R. (2000). "Quantitative determination of carotene stereoisomers in carrot juices and vitamin supplemented (ATBC) drinks." *Food Chemistry*, 70(3), 403-408.
- Matsunaga, H., Katano, M., Yamamoto, H., Fujito, H., Mori, M. and Takata, K. (1990). "Cytotoxic Activity of Polyacetylene Compounds in Panax-Ginseng Meyer, C.A." *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 38(12), 3480-3482.
- Mehwald, J. (1965). "Möhrenanbau und Karotinwerte." *Rheinische Monatsschrift für Gemüse, Obst, Zierpflanzen*, 112-113.
- Meyer, K. (2002) "Carotinoide-Bedeutung und technische Synthesen: Farbenfrohe Antioxidantien." *Chemie in unserer Zeit*, 36(2), 178-192.
- Miladi, S., Jarraya, R. and Damak, M. (2008). "Lipid composition and antioxidant activities of *Daucus maritimus* seeds." *Journal of Applied Sciences*, 8(24), 4689-4693.
- Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M. and Rice-Evans, C. A. (1996). "Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls." *FEBS Letters*, 384, 240-242.
- Miyazawa, M., Shimamura, H., Bhuva, R. C., Nakamura, S. i. and Kameoka, H. (1996). "Antimutagenic Activity of Falcarindiol from *Peucedanum praeruptorum*." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(11), 3444-3448.
- Müller, H. (1997). "Determination of the carotenoid content in selected vegetables and fruit by HPLC and photodiode array detection." *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung A - Food Research and Technology*, 204(2), 88-94.
- Nau, H. and Stahl, W. (2007). "Vitamin A und Carotinoide." *Handbuch der Lebensmitteltoxikologie*, Wiley-VCH Verlag, Weinheim.

- Nicolle, C., Simon, G., Rock, E., Amouroux, P. and Remesy, C. (2004). "Genetic variability influences carotenoid, vitamin, phenolic, and mineral content in white, yellow, purple, orange, and dark-orange carrot cultivars." *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(4), 523-529.
- Nilsson, T. (1979). "Yield Storage Ability Quality and Chemical Composition of Carrot *Daucus-Carota* Cultivar Fancy Cabbage Brassica-Oleracea-Var-Capitata Cultivar Stonehead and Leek Allium-Porrum Cultivar Regius at Conventional and Organic Fertilizing." *Acta Horticulturae (Wageningen)*, (93), 209-224.
- Nitz, S., Spraul, M. H. and Drawert, F. (1990). "C17 polyacetylenic alcohols as the major constituents in roots of *Petroselinum crispum* Mill. ssp. *tuberosum*." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(7), 1445-1447.
- Olson, J. A. (1989). "Provitamin A Function of Carotenoids: The Conversion of  $\beta$ -Carotene into Vitamin A." *Journal of Nutrition*, 119(1), 105-108.
- Olsson, K. and Svensson, R. (1996). "The influence of polyacetylenes on the susceptibility of carrots to storage diseases." *Journal of Phytopathology-Phytopathologische Zeitschrift*, 144(9-10), 441-447.
- Ostrovsky, D., Diomina, G., Lysak, E., Matveeva, E., Ogrel, O. and Trutko, S. (1998). "Effect of oxidative stress on the biosynthesis of 2-C-methyl-D-erythritol-2,4-cyclopyrophosphate and isoprenoids by several bacterial strains." *Archives of Microbiology*, 171(1), 69-72.
- Pfau, A. S., Pictet, J., Plattner, P. and Susz, B. (1935). "Etudes sur les matières végétales volatiles III." Constitution et synthèse du Carlinoxyde. *Helvetica Chimica Acta*, 18(1), 935-951.
- Pferschy-Wenzig, E. M., Getzinger, V., Kunert, O., Woelkart, K., Zahrl, J. and Bauer, R. (2009). "Determination of falcarinol in carrot (*Daucus carota* L.) genotypes using liquid chromatography/mass spectrometry." *Food Chemistry*, 114(3), 1083-1090.
- Pfützer, G., Pfaff, C. (1935). "Untersuchungen auf Gehalte an Carotin und Vitamin C bei Gemüsen und Futterstoffen." *Angewandte Chemie*, 48(36), 581-592.
- Phan, C. T., Hsu, H. and Sarkar, S. K. (1973). "Physical and Chemical Changes Occurring in Carrot Root During Storage." *Canadian Journal of Plant Science*, 53(3), 635-641.
- Pichersky, E., Noel, J. P. and Dudareva, N. (2006). "Biosynthesis of plant volatiles: Nature's diversity and ingenuity." *Science*, 311(5762), 808-811.
- Platenius, H. (1934). "Chemical changes in carrots during growth." *Plant Physiology*, 9(3), 671-680.
- Pollard, A. (1941). "Note on the Effect of Manurial Treatments on the Carotene Content of Carrot Roots." Annual Report of the Agricultural and Horticultural Research Station, Long Ashton, Bristol.
- Putzbach, K., Krucker, M., Albert, K., Grusak, M. A., Tang, G. and Dolnikowski, G. G. (2005). "Structure Determination of Partially Deuterated Carotenoids from Intrinsically Labeled Vegetables by HPLC-MS and  $^1\text{H}$  NMR." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(3), 671-677.



- Richter, B. E., Jones, B. A., Ezzell, J. L., Porter, N. L., Avdalovic, N. and Pohl, C. (1996). "Accelerated Solvent Extraction: A Technique for Sample Preparation." *Analytical Chemistry*, 68(6), 1033-1039.
- Rohdich, F., Wungsintaweeikul, J., Fellermeier, M., Sagner, S., Herz, S., Kis, K., Eisenreich, W., Bacher, A. and Zenk, M. H. (1999). "Cytidine 5'-triphosphate-dependent biosynthesis of isoprenoids: YgbP protein of *Escherichia coli* catalyzes the formation of 4-diphosphocytidyl-2-C-methylerythritol." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(21), 11758-11763.
- Rohdich, F., Bacher, A. and Eisenreich, W. (2004). "Perspectives in anti-infective drug design. The late steps in the biosynthesis of the universal terpenoid precursors, isopentenyl diphosphate and dimethylallyl diphosphate." *Bioorganic Chemistry*, 32(5), 292-308.
- Rosenfeld, H. J., Kjersti, A. and Per, L. (2002). "Influence of temperature and plant density on sensory quality and volatile terpenoids of carrot (*Daucus carota* L.) root." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(12), 1384-1390.
- Roux, A. (1965). "Carrot varieties rich in carotene." *Gemüse*, 1, 125-129.
- Rygg, G. L. (1945). "Sugars in the Root of the Carrot." *Plant Physiology*, 20(1), 47-50.
- Sacchettini, J. C. and Poulter, C. D. (1997). "Biochemistry - Creating isoprenoid diversity." *Science*, 277(5333), 1788-1789.
- Sandhu, K. S., Joshi, A. K. and Bajaj, K. L. (1988). "Effects of Nitrogen-Fertilizer and Weed-Control on Nutritive Quality of Carrots (*Daucus carota* L.)." *Plant Foods for Human Nutrition*, 38(1), 67-73.
- Santos, P. A. G., Figueiredo, A. C., Oliveira, M. M., Barroso, J. G., Pedro, L. G., Deans, S. G. and Scheffer, J. J. C. (2005(a)). "Growth and essential oil composition of hairy root cultures of *Levisticum officinale* W.D.J. Koch (lovage)." *Plant Science*, 168(4), 1089-1096.
- Santos, C. A. F., Senalik, D. and Simon, P. W. (2005(b)). "Path analysis suggests phytoene accumulation is the key step limiting the carotenoid pathway in white carrot roots." *Genetics and Molecular Biology*, 28(2), 287-293.
- Scharrer, K. and Burke, R. (1953). "The effect of nutrition on pro-vitamin-A (carotene) formation in agricultural crops." *Zeitschrift für Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde*, 62, 244-262.
- Schinkovitz, A., Stavri, M., Gibbons, S. and Bucar, F. (2008). "Antimycobacterial polyacetylenes from *Levisticum officinale*." *Phytotherapy Research*, 22(5), 681-684.
- Schmid, H. (2003). "Biochemische Untersuchungen an der Chlorophyll Synthese aus *Avena Sativa*." Dissertation Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Schnitzler, W. H., Broda, S. and Schaller, R. G. (2003). "Screening for important monoterpenes in carrots (*Daucus carota* L. ssp *sativa*) by headspace gas-

- chromatography-olfactometry." *Journal of Applied Botany and Food Quality - Angewandte Botanik*, 77(1-2), 53-56.
- Schopfer, P. and Brennicke, A. (2006). "Pflanzenphysiologie." Spektrum Akademischer Verlag, München.
- Schrader, B., Schulz, H., Baranska, M., Andreev, G. N., Lehner, C. and Sawatzki, J. (2005). "Non-destructive Raman analyses - polyacetylenes in plants." *Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 61(7), 1395-1401.
- Schulz, H. (2005). "Evaluating naturals: application of vibrational spectroscopy methods in essential oil analysis." *Perfumer & Flavorist*, 30(4), 28-38.
- Schulz, H. and Baranska, M. (2007). "Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy." *Vibrational Spectroscopy*, 43(1), 13-25.
- Schulz-Witte, J., Nothnagel, T. and Schulz, H. (2010). "Comparison of different clean-up methods for simultaneous HPLC determination of carotenoids and polyacetylenes in carrot roots." *Journal of Applied Botany and Food Quality - Angewandte Botanik*, 83 (2), 123-127.
- Schuphan, W. (1976). "Mensch und Nahrungspflanze. Der Biologische Wert der Nahrungspflanze in Abhängigkeit von Pestizideinsatz, Bodenqualität und Düngung." Dr. W. Junk B.V.-Verlag, Den Haag.
- Schwender, J., Lichtenthaler, H. K., Seemann, M. and Rohmer, M. (1995). "Photosynthesis: From Light to Biosphere." Kluwer Academic Publishers, Amsterdam.
- Seifert, R. M. and Buttery, R. G. (1978). "Characterization of some previously unidentified sesquiterpenes in carrot roots." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(1), 181-183.
- Seljåsen, R., Gunnar, B. B., Halldor, H. and Gjermund, V. (2001). "Sensory and chemical changes in five varieties of carrot (*Daucus carota* L) in response to mechanical stress at harvest and post-harvest." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(4), 436-447.
- Seljåsen, R., Hoftun, H. and Bengtsson, G. B. (2001). "Sensory quality of ethylene-exposed carrots (*Daucus carota* L. cv 'Yukon') related to the contents of 6-methoxymellein, terpenes and sugars." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(1), 54-61.
- Shamaila, M., Durance, T. and Girard, B. (1996). "Water blanching effects on headspace volatiles and sensory attributes of carrots." *Journal of Food Science*, 61(6), 1191-1195.
- Sies, H. and Stahl, W. (1995). "Vitamin-E and Vitamin-C, Beta-Carotene and Other Carotenoids As Antioxidants." *American Journal of Clinical Nutrition*, 62(6), 1315-1321.
- Simon, P. W., Peterson, C. E. and Lindsay, R. C. (1980(a)). "Correlation between sensory and objective parameters of carrot flavor." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28, 559-562.

- Simon, P. W., Peterson, C. E. and Lindsay, R. C. (1980(b)). "Genetic and Environmental Influences on Carrot Flavor." *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 105(3), 416-420.
- Simon, P. W. and Wolff, X. Y. (1987). "Carotenes in typical and dark orange carrots." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35(6), 1017-1022.
- Simon, P. W. (1990). "Carrots and Other Horticultural Crops As A Source of Provitamin A Carotenes." *Hortscience*, 25(12), 1495-1499.
- Simon, P. W. (2000). "Domestication, historical development and modern breeding of carrot." *Plant Breeding Reviews*, 19, 157-190.
- Souci, S. W., Fachmann, W. and Kraut, H. (2000). "Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabellen." Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart.
- Spurgeon, S. L. and Porter, J. W. (1981). "Biosynthesis of Isoprenoid Compounds." Wiley Verlag, New York.
- Steglich, W., Fugmann, B. and Lang-Fugmann, S. (1997). "Römpp-Lexikon Naturstoffe." Thieme, Stuttgart.
- Surles, R. L., Weng, N., Simon, P. W. and Tanumihardjo, S. A. (2004). "Carotenoid Profiles and Consumer Sensory Evaluation of Specialty Carrots (*Daucus carota*, L.) of Various Colors." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3417-3421.
- Sweeney, J. P. and Marsh, A. C. (1971). "Effects of Selected Herbicides on Provitamin-A Content of Vegetables." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 19(5), 854-856.
- Takagi, M., Kuzuyama, T., Kaneda, K., Watanabe, H., Daiiri, T. and Seto, H. (2000). "Studies on the nonmevalonate pathway: formation of 2-C-methyl-D-erythritol 2,4-cyclodiphosphate from 2-phospho-4-(cytidine 5'-diphospho)-2-C-methyl-D-erythritol." *Tetrahedron Letters*, 41(18), 3395-3398.
- Toth-Markus, M. and Takacs-Hajos, M. (2001). "Flavour substances of carrot cultivars." *Acta Alimentaria*, 30(2), 205-218.
- Tsukida, K., Saiki, K., Takii, T. and Koyama, Y. (1982). "Separation and Determination of Cis-Trans-Beta-Carotenes by High-Performance Liquid-Chromatography." *Journal of Chromatography*, 245(3), 359-364.
- Tsukida, K. (1992). "Separation of Isomers of Cis-Beta-Carotenes." *Methods in Enzymology*, 213 (Carotenoids, Pt. A), 291-298.
- Ulrich, D., Nothnagel, T., Hoberg, E. and Straka, P. (2003). "Analysis of aroma types by rapid GC methods in carrot breeding research 5." *Flavour Research at the Dawn of the Twenty-first Century - Proceedings of the 10th Weurman Flavour Research Symposium, Beaune, France, 25-28 June, 2002*, 440-444.
- Varming, C., Jensen, K., Möller, S., Brockhoff, P. B., Christiansen, T., Edelenbos, M., Björn, G. K. and Poll, L. (2004). "Eating quality of raw carrots-correlations between

- flavour compounds, sensory profiling analysis and consumer liking test." *Food Quality and Preference*, 15(6), 531-540.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L. and Oomah, B. D. (1998). "Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4113-4117.
- Vostrowsky, O. (2010). "Terpene." <http://www.chemie.uni-erlangen.de/vostrowsky/natstoff/GGTSPU-styx2.bba.de-22186-175424-DAT/05Terpene.pdf> (Stand: 05.05.2010)
- Warman, P. R. and Havard, K. A. (1997). "Yield, vitamin and mineral contents of organically and conventionally grown carrots and cabbage." *Agriculture Ecosystems & Environment*, 61(2-3), 155-162.
- Washida, D. and Kitanaka, S. (2003). "Determination of Polyacetylenes and Ginsenosides in Panax Species Using High Performance Liquid Chromatography." *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 51(11), 1314-1317.
- Watzl, B. and Bub, A. (2001). "Carotinoide." *Ernährungs-Umschau*, 48(2), 71-74.
- Watzl, B. and Leitzmann, C. (1995). "Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln." Hippokrates Verlag, Stuttgart.
- Werner, H. (1941). "Dry matter, sugar, and carotene content of morphological portions of carrots through the growing and storage season." *Proceedings of the American Society of Horticultural Science*, 38, 267-272.
- Wittstock, U., Hadacek, F., Wurz, G., Teuscher, E. and Greger, H. (1995). "Polyacetylenes from Water Hemlock, *Cicuta-Virosa*." *Planta Medica*, 61(5), 439-445.
- Yates, S. G. and England, R. E. (1982). "Isolation and analysis of carrot constituents: myristicin, falcarinol, and falcariindiol." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30(2), 317-320.
- Yoo, K. S., Pike, L. M. and Hamilton, B. K. (1997). "A direct headspace sampling technique to rapidly measure low boiling point volatile terpenoids in carrots." *Hortscience*, 32(4), 714-716.
- Zapata, M. and Garrido, J. L. (1991). "Influence of Injection Conditions in Reversed-Phase High-Performance Liquid-Chromatography of Chlorophylls and Carotenoids." *Chromatographia*, 31(11-12), 589-594.
- Zechmeister, L. (1962). "Cis-trans Isomeric Carotenoids, Vitamin A and Arylpolyenes." Springer Verlag, Wien.
- Zidorn, C., Sturm, S., Dawson, J. W., van Klink, J. W., Stuppner, H. and Perry, N. B. (2002). "Chemosystematic investigations of irregular diterpenes in Anisotome and related New Zealand Apiaceae." *Phytochemistry*, 59(3), 293-304.
- Zidorn, C., Johrer, K., Ganzera, M., Schubert, B., Sigmund, E. M., Mader, J., Greil, R., Ellmerer, E. P. and Stuppner, H. (2005). "Polyacetylenes from the Apiaceae Vegetables Carrot, Celery, Fennel, Parsley, and Parsnip and Their Cytotoxic Activities." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2518-2523.

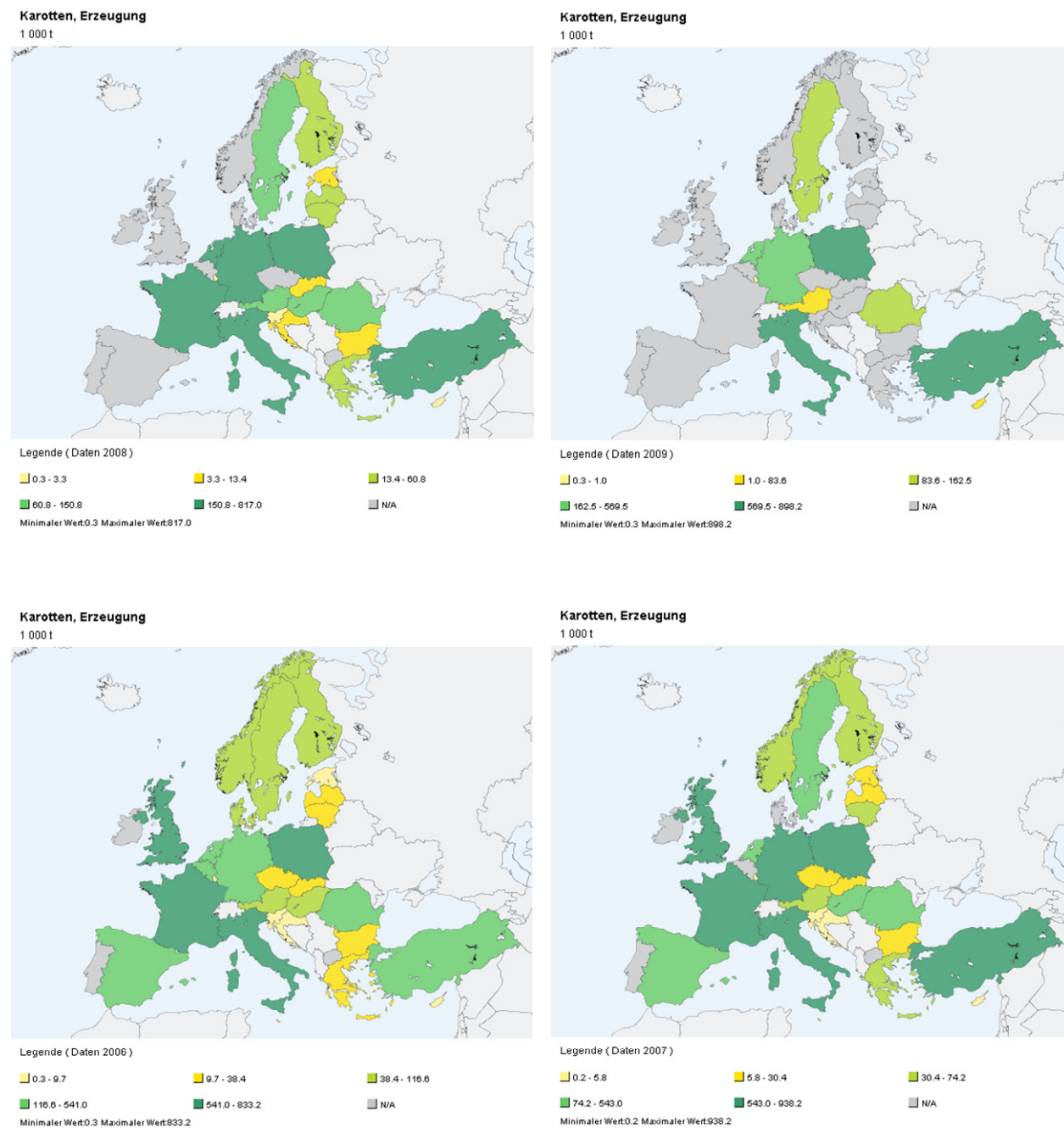
7 Anhang

Abbildung A-7-1: Karottenproduktion in der EU von 2006 bis 2009 in 1.000 t nach Eurostat, 2010 [Eurostat, 2010]

Im Zuge dieser Arbeit verwendete Geräte

Accelerated Solvent Extractor (ASE)	ASE-200 Dionex, Sunnyvale, Kalifornien, USA
Analysenwaage	Satorius portable, Master Serie Satorius, Göttingen
Autosampler für GC	MPS2 Gerstel, Mühlheim an der Ruhr
GC-MS	5973 MSD Agilent Technologies, Böblingen
Gefriertrocknung	Gamma 1-16 LSC (Ver. 2.233) Christ, Osterode
HPLC-DAD	Hewlett Packard - Serie 1100, Agilent Technologies, Böblingen
HPLC-	Hewlett Packard - Serie 1200, Agilent Technologies, Böblingen
MS	Esquire 3000 mit APCI – Quelle, Bruker Daltonik GmbH, Bremen
GC	6890 Gaschromatograph Agilent Technologies, Böblingen
Labormühle	Typ MM 301 Retsch, Haan
Laborwaage	Satorius universal Satorius, Göttingen
Reinstwasseranlage	Aquintus LS TI Ser.-Nr. RW061109 Membra Pure GmbH, Bodenheim

---

Rotations-Vakuum-Konzentrator	RVC 2-18 Christ, Osterode
Tiefstkühlschränke	Profiline Pegasus PLPE National LAB GmbH, Mölln
Trockenschrank	Thermo Heraeus 6000 Thermo Electron GmbH, Langenselbold
Ultraschallbad	Sonorex Super (RK 255 H) Bandelin Electronic, Berlin
Winkelrotor für Rotations-Vakuum-Konzentrator	6 × 50 ml Christ, Osterode
Schüttler	HS-250 basic IKA Labortechnik, Staufen

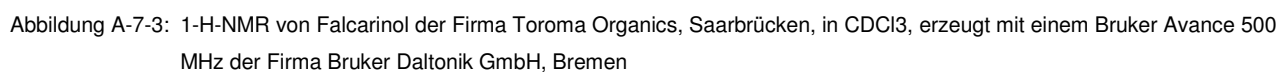






Abbildung A-7-4: Simultane Probenaufarbeitung für Carotinoide und Polyacetylene mittels ASE-200

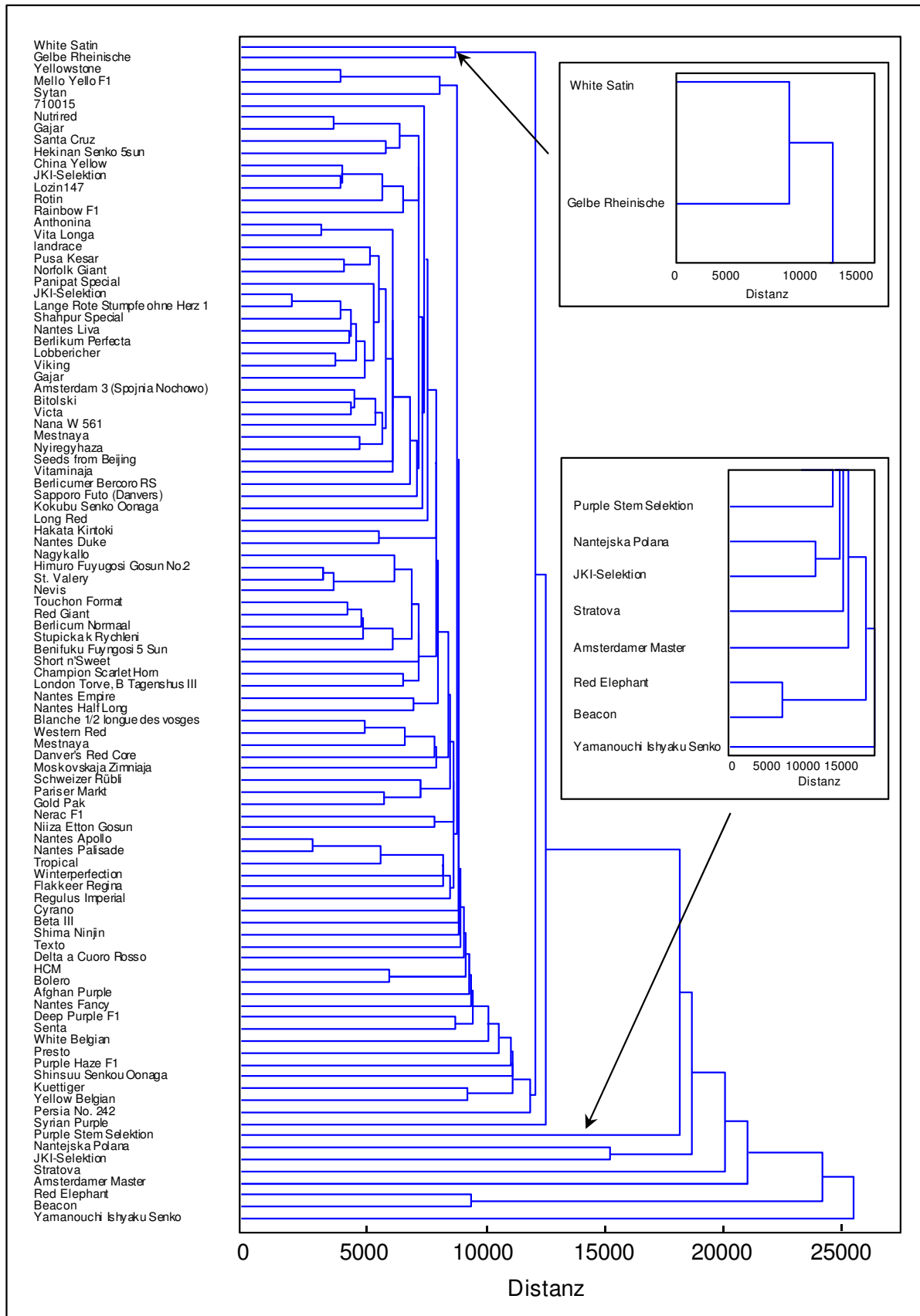


Abbildung A-7-5: Verrechnung der 23 flüchtigen Inhaltsstoffe aus dem Assoziationsversuch I

Tabelle A-7-1: Korrelationsmatrix der flüchtigen Inhaltsstoffe in den Karottenblättern und den nicht-flüchtigen Inhaltsstoffen in den dazugehörigen Karottenwurzeln von 100 Kulturmöhrengenotypen

Inhaltsstoffe (n = 9\23)	Hexanal	(E)-2-Hexenal	Hexanol	$\beta$ -Phellendren	$\alpha$ -Pinen	Camphen	Sabinen	$\beta$ -Pinen	$\beta$ -Myrcen	$\alpha$ -Terpinen	Cymen	Limonen	$\gamma$ -Terpinen	Terpinolen	Bornyl-Acetat	Eugenol	$\beta$ -Caryophyllen	$\beta$ -Farnesen	$\alpha$ -Caryophyllen	Germacren	$\alpha$ -Farnesen	$\beta$ -Bisabolen	$\alpha$ -Caryophyllen
Fructose	0,41	0,47	0,26	-0,03	-0,13	-0,11	0,07	-0,10	0,10	-0,07	-0,14	0,15	-0,12	0,02	-0,12	0,03	-0,03	-0,13	-0,16	0,28	-0,26	-0,04	-0,18
Glucose	0,29	0,41	0,17	0,06	-0,13	-0,12	0,07	-0,02	0,07	0,01	-0,11	0,15	-0,04	0,10	-0,13	0,00	-0,06	-0,17	-0,15	0,29	-0,22	-0,07	-0,20
Saccharose	0,10	0,18	0,14	0,09	0,22	0,21	-0,14	0,09	-0,28	0,05	0,29	-0,10	0,06	0,00	-0,12	-0,23	-0,27	-0,01	-0,37	0,09	-0,18	-0,15	0,01
Lutein	0,26	0,26	0,12	0,17	0,10	0,09	-0,18	0,15	-0,16	0,15	0,06	-0,01	0,15	0,07	-0,22	-0,15	0,03	0,05	-0,09	0,09	-0,14	-0,18	-0,10
$\alpha$ -Carotin	0,14	0,04	-0,01	-0,09	0,17	0,17	0,16	-0,09	0,00	-0,07	-0,01	-0,14	-0,03	-0,14	0,03	-0,07	0,22	-0,12	0,09	-0,12	0,12	0,03	0,12
$\beta$ -Carotin	0,14	0,04	0,05	-0,04	0,16	0,15	0,08	-0,02	0,06	-0,01	-0,05	-0,08	0,02	-0,08	0,03	-0,09	0,21	-0,14	0,06	-0,08	0,09	-0,04	0,05
FaDOH	0,09	0,20	0,02	0,09	-0,07	-0,12	-0,15	0,03	-0,16	0,03	0,01	-0,03	0,03	0,04	-0,19	-0,14	-0,10	-0,01	-0,09	0,24	-0,23	-0,12	-0,06
FaDOH-3-Acetat	-0,12	-0,01	-0,12	0,15	-0,14	-0,19	-0,07	0,09	-0,10	0,09	0,02	-0,02	0,08	0,03	-0,15	-0,12	0,03	-0,02	0,04	0,19	-0,11	-0,15	-0,05
FaOH	0,02	0,07	0,07	-0,11	-0,03	-0,05	-0,13	-0,11	-0,16	-0,13	-0,13	-0,11	-0,14	-0,09	-0,22	-0,15	0,05	0,05	-0,05	0,24	-0,22	-0,12	-0,10

Tabelle A-7-2: Konzentrationen der nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe in 100 untersuchten Kulturmöhrengenotypen aus dem Assoziationsversuch I (\* = kein Material für eine Analyse vorhanden)

Nr. (n = 100)	Genotyp	Farbe	FaOH	Stabw	FaOH-3- Acetal	Stabw	FaOH	Stabw	Lutein	Stabw	$\alpha$ -Carotin	Stabw	$\beta$ -Carotin	Stabw	Fructose	Stabw	Glucose	Stabw	Saccharose	Stabw
01	White Satin	weiß	18,64 ± 4,30		4,54 ± 0,79	2,81 ± 0,37		0,15 ± 0,05	0,12 ± 0,01	3,01 ± 0,60	895,40 ± 168,95	1546,22 ± 276,30	784,72 ± 310,13							
02	Yellowstone	gelb	34,85 ± 10,53	6,81 ± 6,23	6,17 ± 1,35	2,06 ± 0,44	0,32 ± 0,10	6,82 ± 1,22	779,17 ± 355,93	1275,27 ± 522,00	1602,50 ± 694,18									
03	710015	gelb	29,36 ± 10,57	4,17 ± 3,49	6,94 ± 1,47	1,43 ± 0,04	0,04 ± 0,08	4,11 ± 0,85	958,74 ± 64,29	1645,66 ± 88,91	842,99 ± 43,46									
04	Nutired	rot	12,75 ± 5,07	0,70 ± 0,26	1,29 ± 1,05	0,02 ± 0,00	0,13 ± 0,05	2,01 ± 0,82	256,06 ± 35,55	289,94 ± 43,36	1682,71 ± 219,25									
05	Santa Cruz	orange	11,65 ± 7,08	1,29 ± 0,83	3,08 ± 3,37	0,66 ± 0,18	3,66 ± 0,57	45,24 ± 8,43	593,57 ± 132,57	885,71 ± 182,04	1292,75 ± 420,32									
06	Nerac F1	orange	10,34 ± 4,83	1,59 ± 0,78	1,89 ± 1,08	0,45 ± 0,22	1,87 ± 0,40	25,01 ± 7,09	368,90 ± 32,71	471,22 ± 45,69	956,04 ± 35,40									
07	Deep Purple F1	violett	16,79 ± 4,91	2,47 ± 0,93	16,20 ± 4,97	1,88 ± 0,51	0,83 ± 1,17	13,89 ± 11,26	555,71 ± 93,87	961,06 ± 55,89	1614,91 ± 516,29									
08	Purple Haze F1	violett	2,13 ± 1,74	0,50 ± 0,22	0,78 ± 0,57	0,21 ± 0,26	1,14 ± 1,70	11,03 ± 16,19	76,95 ± 51,36	126,05 ± 67,75	1724,48 ± 389,94									
09	Athinona	violett	42,40 ± 10,77	14,93 ± 3,09	28,11 ± 18,47	0,77 ± 0,18	0,00 ± 0,00	3,24 ± 2,81	118,89 ± 0,00	253,31 ± 0,00	1340,94 ± 0,00									
10	Schweizer Rübi	weiß	21,44 ± 6,50	8,65 ± 2,17	2,33 ± 0,65	0,03 ± 0,05	0,01 ± 0,01	1,05 ± 0,34	322,44 ± 250,85	667,91 ± 341,63	1277,56 ± 327,24									
11	Blanche 1/2 longue des vosges	weiß	20,04 ± 6,32	8,15 ± 4,31	6,18 ± 3,36	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,90 ± 0,12	508,65 ± 17,58	848,64 ± 134,93	1231,34 ± 231,47									
12	Persia No. 242	gelb	16,32 ± 4,36	3,59 ± 2,06	3,90 ± 3,00	0,04 ± 0,04	0,02 ± 0,01	0,91 ± 0,10	138,68 ± 61,18	203,26 ± 120,15	1602,03 ± 122,42									
13	Gelbe Rheinische	gelb	14,18 ± 2,30	1,63 ± 0,77	1,58 ± 0,68	1,09 ± 1,00	0,13 ± 0,05	6,14 ± 1,87	711,95 ± 40,76	1102,83 ± 92,55	600,11 ± 13,50									
14	Landrace	orange	32,31 ± 3,33	3,32 ± 1,45	17,73 ± 6,44	0,73 ± 0,12	0,68 ± 0,52	9,24 ± 5,64	293,00 ± 95,31	475,80 ± 142,91	1353,71 ± 166,42									
15	Afghan Purple	violett	18,89 ± 8,87	1,36 ± 0,75	6,50 ± 2,62	0,23 ± 0,28	0,00 ± 0,00	1,44 ± 0,42	955,17 ± 32,60	1491,80 ± 69,98	458,40 ± 131,15									
16	Senta	orange	10,70 ± 3,72	1,45 ± 0,56	2,66 ± 2,40	0,25 ± 0,23	1,76 ± 1,49	22,30 ± 18,55	337,94 ± 67,69	589,95 ± 144,15	1139,51 ± 48,15									
17	Nantes Fancy	orange	5,20 ± 4,04	0,72 ± 0,49	1,77 ± 2,26	0,05 ± 0,08	0,78 ± 1,26	9,53 ± 14,46	135,82 ± 62,96	146,51 ± 70,99	1781,05 ± 136,85									
18	Nagykaló	orange	8,99 ± 1,43	1,12 ± 0,66	1,55 ± 0,44	0,70 ± 0,35	0,73 ± 0,25	11,59 ± 2,33	510,73 ± 112,58	729,08 ± 142,23	1240,93 ± 216,34									
19	Himuro Fuyugosi Gosun No.2	orange	16,00 ± 4,89	2,22 ± 0,59	1,69 ± 0,69	0,34 ± 0,20	2,92 ± 0,91	31,53 ± 13,40	992,98 ± 252,65	1197,22 ± 207,18	848,58 ± 282,28									
20	Nantesjska Polana	orange	4,23 ± 3,47	1,06 ± 0,71	2,92 ± 2,64	0,11 ± 0,10	0,82 ± 0,80	6,81 ± 6,04	206,96 ± 58,05	323,28 ± 123,17	1484,15 ± 116,15									
21	Hakata Kinko	rot	2,29 ± 2,65	0,47 ± 0,42	0,16 ± 0,10	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,02	0,28 ± 0,49	177,53 ± 51,21	201,05 ± 52,93	1705,02 ± 196,96									
22	Pusa Kesar	rot	3,21 ± 1,66	0,16 ± 0,01	3,48 ± 2,79	0,14 ± 0,14	0,11 ± 0,20	1,42 ± 1,83	403,69 ± 126,84	402,55 ± 149,44	1168,84 ± 230,32									
23	Panipat Special	rot	10,87 ± 4,06	0,49 ± 0,23	5,41 ± 1,95	0,80 ± 0,16	0,47 ± 0,16	3,40 ± 0,99	875,23 ± 248,56	1056,97 ± 248,46	750,00 ± 192,25									
24	Syrian Purple	violett	21,54 ± 5,19	1,76 ± 0,43	6,34 ± 1,53	0,32 ± 0,17	0,00 ± 0,00	2,81 ± 1,31	392,74 ± 61,89	453,98 ± 79,29	1708,23 ± 193,50									
25	JKI-Selektion	violett	14,89 ± 2,02	1,23 ± 0,54	14,91 ± 3,05	0,77 ± 0,05	0,00 ± 0,00	2,24 ± 1,99	492,94 ± 131,46	723,24 ± 192,61	1524,39 ± 429,57									
26	Nantes Apollo	orange	7,62 ± 3,55	1,23 ± 0,70	2,35 ± 1,48	0,41 ± 0,11	2,13 ± 1,35	27,26 ± 8,58	555,44 ± 94,43	847,79 ± 106,82	650,84 ± 92,87									
27	China Yellow	gelb	10,23 ± 1,09	0,58 ± 0,03	3,59 ± 2,57	0,78 ± 0,27	0,07 ± 0,02	2,74 ± 0,66	109,27 ± 36,63	154,81 ± 20,28	2002,66 ± 89,67									
28	Shangpu Special	rot	12,84 ± 1,92	0,64 ± 0,29	5,66 ± 2,65	0,92 ± 0,49	0,52 ± 0,33	5,15 ± 3,04	675,29 ± 48,25	978,34 ± 161,54	848,58 ± 190,09									
29	Kokubu Senko Onnaga	orange	3,14 ± 3,46	0,46 ± 0,28	0,81 ± 1,13	0,11 ± 0,18	1,03 ± 1,72	7,41 ± 12,02	205,63 ± 59,00	278,36 ± 78,20	1814,35 ± 158,80									
30	Sapporo Futo (Danvers)	orange	14,11 ± 12,15	0,77 ± 0,56	3,85 ± 3,20	0,13 ± 0,13	2,23 ± 1,95	13,32 ± 12,02	101,27 ± 0,00	93,14 ± 0,00	1989,47 ± 381,25									
31	Shima Nijin	gelb	15,91 ± 3,32	0,72 ± 0,15	3,66 ± 2,87	1,03 ± 0,36	0,12 ± 0,04	2,07 ± 0,51	240,64 ± 41,20	261,29 ± 63,69	2416,40 ± 227,74									
32	Hekinan Senko Seun	orange	1,98 ± 1,45	0,33 ± 0,29	0,57 ± 0,43	0,10 ± 0,10	2,45 ± 2,20	19,55 ± 16,32	679,08 ± 92,33	1026,53 ± 84,14	1195,82 ± 203,58									
33	Amsterdam 3 (Sponja Nachowo)	orange	6,19 ± 0,99	1,32 ± 0,73	0,51 ± 0,13	0,02 ± 0,02	0,66 ± 0,56	9,32 ± 7,59	147,38 ± 61,92	205,05 ± 88,65	1081,47 ± 218,14									
34	Seeds from Beijing	rot	11,20 ± 8,06	0,61 ± 0,18	0,78 ± 0,40	0,02 ± 0,04	1,41 ± 1,32	18,02 ± 17,73	107,65 ± 12,09	130,75 ± 9,18	1811,90 ± 96,79									
35	White Belgian	gelb	13,36 ± 1,45	4,33 ± 1,02	2,40 ± 0,49	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,01	1,31 ± 0,32	265,61 ± 71,85	522,55 ± 252,69	1650,06 ± 172,40									
36	Lobbericher	weiß	9,82 ± 5,96	1,72 ± 1,28	1,89 ± 1,22	0,23 ± 0,26	0,24 ± 0,26	4,05 ± 3,03	257,37 ± 91,02	472,76 ± 184,87	1961,34 ± 253,77									
37	Gajar	rot	19,94 ± 8,21	1,42 ± 0,94	10,03 ± 4,69	1,00 ± 0,91	0,16 ± 0,06	3,30 ± 0,61	687,38 ± 123,61	794,21 ± 188,75	1293,45 ± 374,25									
38	Mesitraya	orange	3,98 ± 1,27	1,02 ± 0,37	0,62 ± 0,00	0,65 ± 0,51	0,13 ± 0,10	3,40 ± 2,14	125,45 ± 54,75	240,41 ± 157,19	2224,79 ± 283,33									
39	JKI-Selektion	violett	18,79 ± 4,31	1,40 ± 1,15	16,30 ± 3,54	2,93 ± 0,93	0,50 ± 0,47	9,94 ± 5,86	592,89 ± 162,71	909,47 ± 244,35	1119,23 ± 396,37									
40	JKI-Selektion	violett	15,47 ± 4,49	0,87 ± 0,36	3,70 ± 1,54	1,06 ± 0,50	0,63 ± 0,10	9,06 ± 1,45	11,64 ± 2,94	20,67 ± 5,38	1744,01 ± 21,93									
41	Lozin147	orange	4,15 ± 2,13	0,56 ± 0,35	0,57 ± 0,28	1,01 ± 0,45	0,12 ± 0,13	1,62 ± 1,24	494,35 ± 131,02	632,30 ± 152,10	840,17 ± 192,43									
42	Delta a Cuoro Rosso	orange	2,87 ± 4,15	0,35 ± 0,50	0,38 ± 0,48	0,81 ± 0,24	0,66 ± 1,13	5,41 ± 8,94	555,11 ± 82,57	800,46 ± 154,81	626,67 ± 98,02									
43	HCM	orange	15,83 ± 8,78	1,00 ± 0,38	5,05 ± 3,83	2,46 ± 2,15	1,50 ± 0,43	12,89 ± 3,14	704,20 ± 218,29	749,67 ± 90,51	1251,98 ± 183,44									
44	Western Red	orange	7,66 ± 3,12	1,22 ± 0,36	2,47 ± 1,32	1,03 ± 0,12	2,20 ± 0,26	22,12 ± 1,07	796,06 ± 227,80	1226,43 ± 429,46	953,10 ± 528,29									
45	Norfolk Giant	orange	4,41 ± 1,97	0,73 ± 0,43	1,43 ± 1,53	0,00 ± 0,00	0,68 ± 0,66	7,64 ± 6,28	252,57 ± 295,04	329,70 ± 390,08	2284,10 ± 721,97									
46	Kuestiger	gelb	13,94 ± 9,18	2,73 ± 2,29	2,88 ± 1,40	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,91 ± 0,11	690,69 ± 97,12	929,80 ± 116,93	1689,79 ± 119,14									
47	Yellow Belgian	gelb	16,28 ± 3,99	0,79 ± 0,58	5,74 ± 2,19	0,43 ± 0,06	0,17 ± 0,04	4,89 ± 0,87	719,55 ± 100,68	845,85 ± 201,92	1131,08 ± 328,98									
48	Bitolski	orange	3,81 ± 3,43	1,23 ± 0,88	0,34 ± 0,26	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,05	0,85 ± 0,36	798,32 ± 362,16	954,94 ± 404,19	748,08 ± 540,94									
49	Gajar	gelb	10,80 ± 8,02	0,61 ± 0,40	3,14 ± 3,14	0,15 ± 0,14	0,26 ± 0,23	4,35 ± 3,42	574,31 ± 105,43	698,52 ± 133,84	1619,10 ± 34,63									
50	Mesitraya	violett	7,73 ± 2,27	0,47 ± 0,31	4,98 ± 2,54	0,05 ± 0,08	0,01 ± 0,01	0,94 ± 0,11	937,21 ± 537,11	1206,87 ± 740,47	1411,07 ± 836,64									
51	Red Elephant	orange	4,86 ± 3,89	2,14 ± 0,76	0,15 ± 0,05	0,00 ± 0,00	0,10 ± 0,08	0,90 ± 0,38	174,34 ± 62,10	264,53 ± 86,80	1846,59 ± 99,44									
52	Victoria	orange	7,57 ± 2,34	0,74 ± 0,18	0,80 ± 0,44	0,06 ± 0,11	1,13 ± 0,53	12,46 ± 6,54	733,21 ± 108,21	1065,14 ± 127,75	1181,11 ± 368,55									
53	Nizza Etton Gosun	orange	4,31 ± 2,31	0,98 ± 0,40	0,61 ± 0,39	0,22 ± 0,22	2,82 ± 2,32	18,14 ± 14,64	53,81 ± 30,86	75,92 ± 43,96	1668,00 ± 42,82									
54	Nevis	orange	3,81 ± 2,13	0,60 ± 0,38	1,24 ± 0,87	0,00 ± 0,00	1,71 ± 1,41	16,53 ± 14,17	283,55 ± 111,11	464,81 ± 180,69	783,33 ± 83,26									
55	Rotin	orange	7,39 ± 3,45	2,05 ± 0,85	0,71 ± 0,28	0,03 ± 0,03	3,08 ± 0,84	22,18 ± 7,88	335,47 ± 147,54	444,33 ± 211,11	939,35 ± 413,13									
56	Vita Longa	orange	22,96 ± 11,41	2,20 ± 1,46	1,04 ± 0,29	0,01 ± 0,02	2,14 ± 0,60	23,30 ± 8,07	*	*	*									
57	Nantes Empire	orange	23,49 ± 16,40	3,71 ± 2,14	4,56 ± 0,59	0,03 ± 0,04	1,75 ± 1,40	17,98 ± 5,81	171,07 ± 0,00	230,63 ± 0,00	642,00 ± 0,00									
58	Touchon Format	orange	17,76 ± 9,01	2,53 ± 1,29	2,37 ± 1,94	0,09 ± 0,08	0,83 ± 0,25	10,66 ± 3,82	384,81 ± 0,00	585,24 ± 120,40	559,39 ± 88,36									
59	Amsterdamer Master	orange	3,26 ± 3,77	0,25 ± 0,06	0,77 ± 1,06	0,00 ± 0,00	0,13 ± 0,17	1,18 ± 0,95	299,70 ± 118,22	400,52 ± 164,95	1107,81 ± 114,93									
60	Langte Rote Stumpfe ohne Herz 1	orange	3,29 ± 0,86	0,19 ± 0,03	0,43 ± 0,28	0,14 ± 0,13	0,65 ± 0,15	8,48 ± 2,44	348,28 ± 59,18	524,69 ± 106,56	946,52 ± 150,50									
61	Nana W 561	orange	17,46 ± 3,28	0,93 ± 0,15	1,31 ± 0,50	0,03 ± 0,05	1,36 ± 0,72	12,01 ± 3,84	107,96 ± 9,62	151,26 ± 36,92	1094,33 ± 264,90									
62	Shinsu Senko Onnaga	orange	3,76 ± 2,84	0,29 ± 0,15	2,03 ± 2,25	0,03 ± 0,05	1,81 ± 2,33	14,41 ± 18,61	166,03 ± 108,47	259,77 ± 160,76	1428,84 ± 291,30									
63	Benifuku Fuyugosi 5 Sun	orange	2,83 ± 1,60	0,24 ± 0,05	0,21 ± 0,12	0,00 ± 0,00	0,73 ± 0,96	7,41 ± 8,91	454,91 ± 52,25	580,41 ± 165,88	660,51 ± 41,62									
64	Stratova	orange	6,55 ± 3,63	1,00 ± 0,60	0,64 ± 0,46	0,00 ± 0,00	0,14 ± 0,16	2,18 ± 1,89	397,32 ± 310,09	708,87 ± 545,25	1320,45 ± 450,07									
65	Nantes Half Long	orange	6,89 ± 2,51	0,70 ± 0,42	2,64 ± 0,78	0,28 ± 0,13	1,16 ± 0,62	11,93 ± 6,15	356,30 ± 124,37	510,72 ± 138,38	1008,51 ± 243,27									
66	Champion Scarlet Horn	orange	3,61 ± 2,29	0,41 ± 0,21	0,30 ± 0,35	0,14 ± 0,20	0,66 ± 1,00	7,87 ± 11,55	373,54 ± 18,30	469,21 ± 118,54	812,77 ± 162,27									
67	Viking	orange	4,50 ± 3,06	0,51 ± 0,31	0,34 ± 0,41	0,19 ± 0,28	0,84 ± 1,29	10,09 ± 15,09	374,21 ± 27,75	512,06 ± 111,44	760,81 ± 215,47									
68	Berikum Normal	orange	7,32 ± 1,60	0,49 ± 0,33	0,88 ± 0,21	0,43 ± 0,14	0,66 ± 0,36	9,59 ± 4,25	346,47 ± 244,41	394,70 ± 204,30	1204,41 ± 136,94									
69	Purple Stem Selektion	gelb	7,35 ± 3,18	1,01 ± 0,35	1,54 ± 0,49	0,81 ± 0,40	0,12 ± 0,10	2,78 ± 1,72	189,34 ± 96,93	226,70 ± 331,31	1									

Tabelle A-7-3: Konzentrationen der nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe in 104 untersuchten Wildmöhrengenotypen aus dem Assoziationsversuch II

Nr. (n=104)	Spezies/ssp.	FaDOH	Stabw	FaDOH-3-Acetat	Stabw	FaOH	Stabw	Lutein	Stabw	$\alpha$ -Carotin	Stabw	$\beta$ -Carotin	Stabw	Lycopin	Stabw
AS 101	<i>D. aureus</i>	4,67 ± 1,41		6,95 ± 5,32		8,51 ± 4,79		0,06 ± 0,04		0,02 ± 0,01		2,57 ± 1,17		0,00 ± 0,00	
AS 102	<i>D. aureus</i>	12,41 ± 1,80		0,57 ± 0,16		2,58 ± 0,02		0,13 ± 0,01		0,02 ± 0,01		2,79 ± 0,86		0,00 ± 0,00	
AS 103	<i>D. aureus</i>	3,81 ± 3,09		0,32 ± 0,15		0,84 ± 0,39		0,11 ± 0,13		0,02 ± 0,01		3,25 ± 1,52		0,00 ± 0,00	
AS 104	<i>D. guttatus</i>	40,58 ± 6,19		1,85 ± 0,34		10,56 ± 4,12		0,05 ± 0,06		0,14 ± 0,03		2,35 ± 0,32		0,00 ± 0,00	
AS 105	<i>D. littoralis</i>	4,29 ± 2,60		0,50 ± 0,23		5,80 ± 5,49		0,00 ± 0,00		0,07 ± 0,00		8,60 ± 5,24		0,00 ± 0,00	
AS 106	<i>D. littoralis</i>	3,35 ± 1,43		0,56 ± 0,19		8,77 ± 0,59		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00	
AS 107	<i>D. muricatus</i>	3,22 ± 2,81		3,24 ± 0,91		2,75 ± 1,20		0,01 ± 0,02		0,03 ± 0,02		4,83 ± 3,93		0,00 ± 0,00	
AS 109	<i>D. muricatus</i>	44,39 ± 33,44		1,49 ± 0,11		6,78 ± 3,49		8,20 ± 1,55		0,00 ± 0,00		31,70 ± 0,30		0,00 ± 0,00	
AS 110	<i>D. pusillus</i>	45,42 ± 39,68		1,37 ± 0,94		13,03 ± 14,73		6,00 ± 2,76		0,00 ± 0,00		20,95 ± 10,09		0,00 ± 0,00	
AS 111	<i>D.c.ssp.hispidus</i>	75,42 ± 39,32		6,67 ± 3,68		3,25 ± 0,55		0,10 ± 0,07		0,06 ± 0,01		3,17 ± 0,54		0,00 ± 0,00	
AS 112	<i>D.c.ssp.maritimus</i>	91,79 ± 47,12		2,59 ± 2,14		6,60 ± 3,69		0,08 ± 0,09		0,07 ± 0,06		3,43 ± 1,95		0,00 ± 0,00	
AS 113	<i>D.c.ssp.maximus</i>	45,38 ± 16,96		1,33 ± 0,07		1,81 ± 0,78		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00	
AS 114	<i>D.c.ssp.maximus</i>	6,12 ± 2,48		1,29 ± 0,56		0,42 ± 0,13		0,00 ± 0,00		0,01 ± 0,00		1,50 ± 0,02		0,00 ± 0,00	
AS 115	<i>D. crinitus</i>	9,81 ± 5,08		0,43 ± 0,34		2,74 ± 0,67		1,28 ± 0,00		0,00 ± 0,00		4,13 ± 0,00		0,00 ± 0,00	
AS 116	<i>D. crinitus</i>	23,98 ± 27,92		1,44 ± 1,87		10,11 ± 13,10		0,63 ± 0,89		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00	
AS 117	<i>D. involucreatus</i>	11,02 ± 7,28		0,90 ± 0,11		0,86 ± 0,35		0,00 ± 0,00		0,20 ± 0,17		28,90 ± 13,72		0,00 ± 0,00	
AS 118	<i>D. involucreatus</i>	57,98 ± 0,51		4,31 ± 0,14		10,50 ± 3,04		0,13 ± 0,18		0,07 ± 0,03		6,81 ± 5,90		0,00 ± 0,00	
AS 119	<i>D. involucreatus</i>	2,96 ± 0,92		0,53 ± 0,04		0,48 ± 0,06		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00		25,13 ± 0,43		0,00 ± 0,00	
AS 120	<i>D.c. carota</i>	45,62 ± 16,40		1,99 ± 0,44		11,57 ± 2,95		0,27 ± 0,10		0,02 ± 0,10		1,42 ± 0,14		0,00 ± 0,00	
AS 121	<i>D.c.maximus</i>	20,48 ± 4,74		0,38 ± 0,10		2,30 ± 1,69		0,00 ± 0,00		0,09 ± 0,00		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00	
AS 122	<i>D.c.maximus</i>	27,63 ± 4,51		2,05 ± 0,85		76,05 ± 9,34		0,24 ± 0,19		0,02 ± 0,01		1,68 ± 0,27		0,00 ± 0,00	
AS 123	<i>D.c.maximus</i>	23,57 ± 11,10		3,14 ± 1,80		5,43 ± 4,72		0,30 ± 0,14		0,09 ± 0,02		2,46 ± 0,67		0,00 ± 0,00	
AS 124	<i>D.c. carota</i>	13,55 ± 6,79		1,07 ± 0,11		9,43 ± 4,84		1,43 ± 0,19		0,95 ± 0,74		30,79 ± 22,42		0,00 ± 0,00	
AS 125	<i>D.c. carota</i>	94,85 ± 29,25		7,07 ± 1,21		18,16 ± 12,60		0,05 ± 0,06		0,02 ± 0,01		1,69 ± 0,17		0,00 ± 0,00	
AS 126	<i>D.c. carota</i>	97,59 ± 63,51		15,45 ± 15,81		12,73 ± 1,03		0,17 ± 0,06		0,02 ± 0,00		1,91 ± 0,47		0,00 ± 0,00	
AS 127	<i>D.c. carota</i>	59,92 ± 44,98		7,02 ± 3,70		4,64 ± 2,15		0,52 ± 0,04		0,05 ± 0,00		2,15 ± 1,39		0,00 ± 0,00	
AS 128	<i>D.c. carota</i>	50,89 ± 11,41		1,50 ± 0,05		21,67 ± 2,45		0,78 ± 0,06		0,00 ± 0,00		3,78 ± 0,98		0,00 ± 0,00	
AS 129	<i>D.c. carota</i>	36,48 ± 22,09		2,92 ± 1,82		5,90 ± 3,75		0,83 ± 0,08		0,00 ± 0,00		2,27 ± 0,32		0,00 ± 0,00	
AS 130	<i>Daucus muricatus</i>	37,99 ± 27,67		4,13 ± 0,73		48,79 ± 11,60		0,11 ± 0,19		0,05 ± 0,01		8,11 ± 2,19		0,00 ± 0,00	
AS 131	<i>D.c. major</i>	32,45 ± 5,45		4,00 ± 0,83		5,47 ± 3,65		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00	
AS 132	<i>D.c. major</i>	138,95 ± 36,77		9,12 ± 3,39		25,51 ± 2,20		0,19 ± 0,18		0,04 ± 0,00		2,10 ± 0,30		0,00 ± 0,00	
AS 133	<i>Daucus broteri</i>	18,06 ± 15,95		4,62 ± 3,02		5,59 ± 2,88		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00		11,69 ± 9,93		0,00 ± 0,00	
AS 134	<i>Daucus guttatus</i>	49,25 ± 46,06		1,38 ± 1,65		2,16 ± 1,71		0,08 ± 0,14		0,04 ± 0,03		5,50 ± 1,11		0,00 ± 0,00	
AS 135	<i>Daucus broteri</i>	5,65 ± 4,75		2,86 ± 2,78		0,73 ± 0,25		0,03 ± 0,04		0,03 ± 0,04		4,76 ± 3,35		0,00 ± 0,00	
AS 136	<i>Daucus hispidifolius</i>	42,11 ± 10,26		14,42 ± 2,18		6,09 ± 1,50		0,03 ± 0,03		0,01 ± 0,00		1,22 ± 0,24		0,00 ± 0,00	
AS 137	<i>Daucus carota</i>	64,01 ± 16,27		6,63 ± 4,12		11,91 ± 4,05		0,07 ± 0,08		0,29 ± 0,05		4,92 ± 2,11		0,00 ± 0,00	
AS 138	<i>Daucus carota</i>	31,60 ± 5,20		1,78 ± 0,65		20,35 ± 13,63		0,00 ± 0,00		0,08 ± 0,01		2,21 ± 0,38		0,00 ± 0,00	
AS 139	<i>D.c.gummifer</i>	155,58 ± 124,86		14,24 ± 9,42		30,14 ± 26,57		0,13 ± 0,15		0,04 ± 0,00		1,55 ± 0,46		0,00 ± 0,00	
AS 141	<i>Daucus carota</i>	68,19 ± 35,55		3,14 ± 1,25		4,23 ± 1,33		0,11 ± 0,06		0,14 ± 0,01		2,26 ± 0,64		0,00 ± 0,00	
AS 142	<i>Daucus carota</i>	131,16 ± 75,88		7,77 ± 5,10		22,28 ± 16,17		0,04 ± 0,03		0,04 ± 0,00		2,74 ± 1,04		0,54 ± 0,94	
AS 143	<i>D.c.maritimus</i>	134,18 ± 61,83		7,83 ± 3,15		49,06 ± 21,59		0,00 ± 0,00		0,01 ± 0,00		2,09 ± 0,39		0,00 ± 0,00	
AS 144	<i>D.c.maximus</i>	22,45 ± 1,90		2,30 ± 1,03		39,80 ± 5,46		0,81 ± 0,17		0,20 ± 0,15		3,60 ± 0,82		0,00 ± 0,00	
AS 145	<i>D.c.gummifer</i>	152,75 ± 7,63		15,67 ± 7,52		60,15 ± 73,87		0,06 ± 0,03		0,02 ± 0,01		1,92 ± 0,76		0,00 ± 0,00	
AS 146	<i>D.c. maritimus</i>	465,22 ± 90,59		39,96 ± 15,88		31,81 ± 6,21		0,14 ± 0,10		0,01 ± 0,00		1,55 ± 0,25		0,00 ± 0,00	
AS 147	<i>D.c.gadecai</i>	133,50 ± 68,43		12,78 ± 5,08		54,23 ± 15,28		0,13 ± 0,05		0,02 ± 0,00		2,13 ± 0,40		0,00 ± 0,00	
AS 148	<i>D.c. gummifer</i>	138,95 ± 49,06		10,32 ± 14,33		14,85 ± 5,03		0,05 ± 0,08		0,02 ± 0,00		2,57 ± 0,92		0,00 ± 0,00	
AS 149	<i>D.c. commutatus</i>	132,43 ± 67,76		14,94 ± 14,62		87,16 ± 47,61		0,20 ± 0,13		0,03 ± 0,01		2,22 ± 1,00		0,00 ± 0,00	
AS 150	<i>D.c. hispanicus</i>	20,82 ± 8,55		6,82 ± 2,56		50,57 ± 5,70		0,09 ± 0,07		0,05 ± 0,00		1,52 ± 0,41		0,00 ± 0,00	
AS 151	<i>D.c. drepanensis</i>	82,71 ± 31,63		24,44 ± 8,02		3,32 ± 2,23		0,00 ± 0,00		0,02 ± 0,01		2,94 ± 1,66		0,00 ± 0,00	
AS 152	<i>D.c. azoricus</i>	202,58 ± 51,33		21,03 ± 8,79		21,45 ± 3,86		0,12 ± 0,09		0,02 ± 0,00		2,20 ± 0,50		0,06 ± 0,06	
AS 153	<i>D.c.hispidifolius</i>	30,06 ± 7,83		9,42 ± 0,61		4,30 ± 0,51		0,12 ± 0,03		0,01 ± 0,00		1,09 ± 0,14		0,00 ± 0,00	
AS 154	<i>D.c. libanotifolia</i>	29,91 ± 7,24		6,89 ± 2,93		2,28 ± 0,13		0,01 ± 0,02		0,15 ± 0,17		7,02 ± 8,87		0,00 ± 0,00	
AS 156	<i>D. littoralis</i>	1,09 ± 0,49		0,88 ± 0,35		5,54 ± 0,73		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00		2,48 ± 1,43		0,00 ± 0,00	
AS 157	<i>D. muricatus</i>	26,99 ± 17,37		3,47 ± 3,60		3,47 ± 2,75		0,00 ± 0,00		0,18 ± 0,22		29,24 ± 38,03		0,00 ± 0,00	
AS 158	<i>D. pusillus</i>	61,49 ± 22,95		1,04 ± 0,61		1,82 ± 1,03		0,03 ± 0,04		0,04 ± 0,02		6,27 ± 5,31		0,00 ± 0,00	
AS 159	<i>D. involucreatus</i>	63,23 ± 61,58		2,42 ± 0,06		4,27 ± 3,65		0,00 ± 0,00		0,32 ± 0,43		48,84 ± 41,03		0,00 ± 0,00	
AS 160	<i>D. gingidium</i>	72,48 ± 34,52		4,74 ± 1,46		10,77 ± 5,95		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00		2,59 ± 0,95		0,00 ± 0,00	
AS 161	<i>D. halophilus</i>	366,56 ± 49,80		3,90 ± 4,13		13,03 ± 4,28		0,70 ± 0,21		0,09 ± 0,02		1,81 ± 0,54		0,00 ± 0,00	
AS 162	<i>D.montevicensis</i>	30,03 ± 11,61		0,87 ± 0,26		5,67 ± 2,23		0,01 ± 0,01		0,05 ± 0,03		2,41 ± 0,61		0,00 ± 0,00	
AS 163	<i>D.c.maximus</i>	201,51 ± 39,20		8,93 ± 1,96		11,57 ± 6,58		0,03 ± 0,04		0,02 ± 0,00		1,01 ± 0,09		0,00 ± 0,00	
AS 164	<i>D.glochidiatus</i>	24,11 ± 23,95		0,77 ± 0,61		4,12 ± 3,15		0,14 ± 0,20		0,06 ± 0,03		2,78 ± 1,80		0,00 ± 0,00	
AS 165	<i>D.c. carota</i>	48,73 ± 21,72		3,08 ± 1,94		4,05 ± 0,23		0,07 ± 0,00		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00	
AS 166	<i>D.c. carota</i>	34,12 ± 8,90		4,07 ± 0,95		4,59 ± 0,67		0,07 ± 0,03		0,02 ± 0,01		1,33 ± 0,33		0,00 ± 0,00	
AS 167	<i>D.c. carota</i>	26,03 ± 4,16		1,98 ± 0,32		4,22 ± 1,22		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00		0,00 ± 0,00	
AS 168	<i>D.c. carota</i>	40,11 ± 11,36		4,62 ± 1,90		4,89 ± 3,91		0,61 ± 0,10		0,09 ± 0,04		2,05 ± 0,33		0,00 ± 0,00	
AS 171	<i>D.c. carota</i>	12,34 ± 1,68		1,49 ± 0,31		1,46 ± 0,44		0,78 ± 0,12		4,06 ± 0,42		89,96 ± 11,40		0,00 ± 0,00	
AS 172	<i>D.c. carota</i>	55,30 ± 10,20		29,87 ± 15,44		5,79 ± 0,67		0,03 ± 0,04		0,01 ± 0,00		1,17 ± 0,03		0,00 ± 0,00	
AS 173	<i>D.c. carota</i>	100,26 ± 66,69		5,32 ± 2,34		107,30 ± 44,84		0,32 ± 0,15		0,03 ± 0,01		2,26 ± 0,76		0,00 ± 0,00	
AS 174	<i>D.c. carota</i>	62,02 ± 7,54		4,82 ± 0,76		40,27 ± 9,96		0,05 ± 0,02		0,02 ± 0,00		1,50 ± 0,27		0,00 ± 0,00	
AS 175	?	116,46 ± 60,21		2,56 ± 0,91		2,76 ± 0,57		0,00 ± 0,00		0,02 ± 0,00		1,33 ± 0,09		0,00 ± 0,00	
AS 176	?	64,22 ± 38,60		2,15 ± 1,39		4,36 ± 3,09		0,01 ± 0,01		0,03 ± 0,01		2,25 ± 0,61		0,00 ± 0,00	
AS 177	?	51,72 ± 12,60		3,54 ± 2,08		0,70 ± 0,21		0,09 ± 0,09		0,02 ± 0,01		2,53 ± 1,26		0,00 ± 0,00	
AS 178	?	110,45 ± 38,41		4,77 ± 3,53		11,93 ± 6,48		0,00 ± 0,00		0,04 ± 0,00		1,65 ± 0,24		0,00 ± 0,00	
AS 180	?	37,78 ± 26,29		2,64 ± 1,23		42,72 ± 32,39		0,24 ± 0,19		0,14 ± 0,08		3,10 ± 0,64			

## Wurzel- und Knollengemüse Feller et al., 1995 a

### BBCH-Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien von Wurzel- und Knollengemüse

(Möhre = *Daucus carota* L. ssp. *sativus*, Knollensellerie = *Apium graveolens* L. var. *rapaceum* Gaud., Kohlrabi = *Brassica oleracea* L. var. *gongylodes*, Rettich und Radies = *Raphanus sativus* L. ssp., Kohlrübe = *Brassica napus* L. ssp. *rapifera* Metzg., Chicoree = *Cichorium intybus* L. var. *foliosum*, Schwarzwurzel = *Scorzonera hispanica* L.)

Code	Beschreibung
------	--------------

#### Makrostadium 0: Keimung / Keimpflanzenentwicklung

00	Trockener Samen
01	Beginn der Samenquellung
03	Ende der Samenquellung
05	Keimwurzel aus dem Samen ausgetreten
07	Hypokotyl mit Keimblättern hat Samenschale durchbrochen
09	Auflaufen: Keimblätter durchbrechen Bodenoberfläche

#### Makrostadium 1: Blattentwicklung (Hauptspross)

10	Keimblätter voll entfaltet; Vegetationspunkt oder Laubblattansatz sichtbar
11	1. Laubblatt entfaltet
12	2. Laubblatt entfaltet
13	3. Laubblatt entfaltet
1 .	Stadien fortlaufend bis ...
19	9 oder mehr Laubblätter entfaltet

#### Makrostadium 4: Entwicklung vegetativer Pflanzenteile (Erntegut)

41	Beginn des Dickenwachstums der Rübe, Wurzel bzw. Knolle (Durchmesser > 0.5 cm)
42	20% des zu erwartenden Rüben-, Wurzel- bzw. Knolldurchmessers erreicht
43	30% des zu erwartenden Rüben-, Wurzel- bzw. Knolldurchmessers erreicht
44	40% des zu erwartenden Rüben-, Wurzel- bzw. Knolldurchmessers erreicht
45	50% des zu erwartenden Rüben-, Wurzel- bzw. Knolldurchmessers erreicht
46	60% des zu erwartenden Rüben-, Wurzel- bzw. Knolldurchmessers erreicht
47	70% des zu erwartenden Rüben-, Wurzel- bzw. Knolldurchmessers erreicht
48	80% des zu erwartenden Rüben-, Wurzel- bzw. Knolldurchmessers erreicht
49	Dickenwachstum abgeschlossen; art-/sortentypische Form und Grösse der Rübe, Wurzel bzw. Knolle erreicht

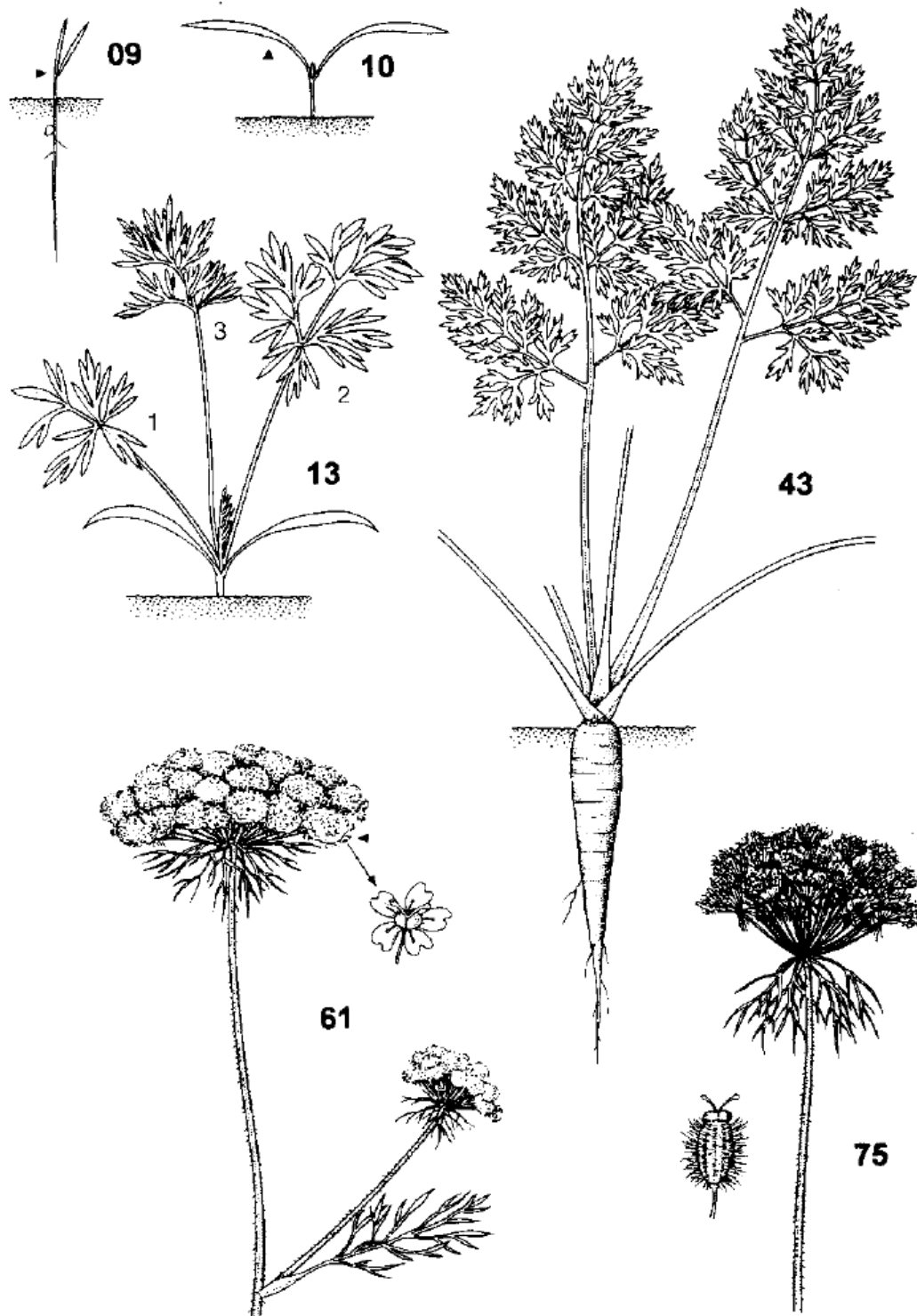


# Wurzel- und Knollengemüse Feller et al., 1995 a

## BBCH-Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien von Wurzel- und Knollengemüse

Code	Beschreibung
<b>Makrostadium 5: Erscheinen der Blütenanlage (Hauptspross) z.T. 2. Vegetationsjahr</b>	
51	Beginn der Streckung des Hauptsprosses
53	30% der zu erwartenden Länge des Hauptsprosses erreicht
55	Einzelblüten der Hauptinfloreszenz sichtbar (geschlossen)
57	Einzelblüten der sekundären Infloreszenzen sichtbar (geschlossen)
59	Erste Blüten voll entwickelt, aber noch geschlossen
<b>Makrostadium 6: Blüte (Hauptspross)</b>	
60	Vereinzelt erste Blüten offen
61	Beginn der Blüte: 10% der Blüten offen
62	20% der Blüten offen
63	30% der Blüten offen
64	40% der Blüten offen
65	Vollblüte: 50% der Blüten offen
67	Abgehende Blüte: 70% der Blüten verblüht
69	Ende der Blüte
<b>Makrostadium 7: Fruchtentwicklung</b>	
71	Erste Früchte ausgebildet
72	20% der Früchte haben artspezifische Grösse erreicht
73	30% der Früchte haben artspezifische Grösse erreicht
74	40% der Früchte haben artspezifische Grösse erreicht
75	50% der Früchte haben artspezifische Grösse erreicht
76	60% der Früchte haben artspezifische Grösse erreicht
77	70% der Früchte haben artspezifische Grösse erreicht
78	80% der Früchte haben artspezifische Grösse erreicht
79	Früchte haben artspezifische Grösse erreicht
<b>Makrostadium 8: Frucht- und Samenreife</b>	
81	Beginn der Reife: 10% der Früchte ausgereift bzw. 10% der Samen art-/sortentypisch gefärbt, trocken und hart
85	50% der Früchte ausgereift bzw. 50% der Samen art-/sortentypisch gefärbt, trocken und hart
89	Vollreife: Samen an der gesamten Pflanze art-/sortentypisch ausgefärbt und hart
<b>Makrostadium 9: Absterben</b>	
92	Beginn der Blatt- und Triebverfärbung
95	50% der Blätter und Stengel vergilbt bzw. abgestorben
97	Pflanze oder oberirdische Teile abgestorben
99	Erntegut (Samen)

## Wurzel- und Knollengemüse



© 1994: BBA und IVA

Abbildung A-7-6 bis A-7-8: Wurzel- und Knollengemüse – BBCH-Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien von Wurzel- und Knollengemüse nach Feller et al., 1995 [Feller et al., 1995]



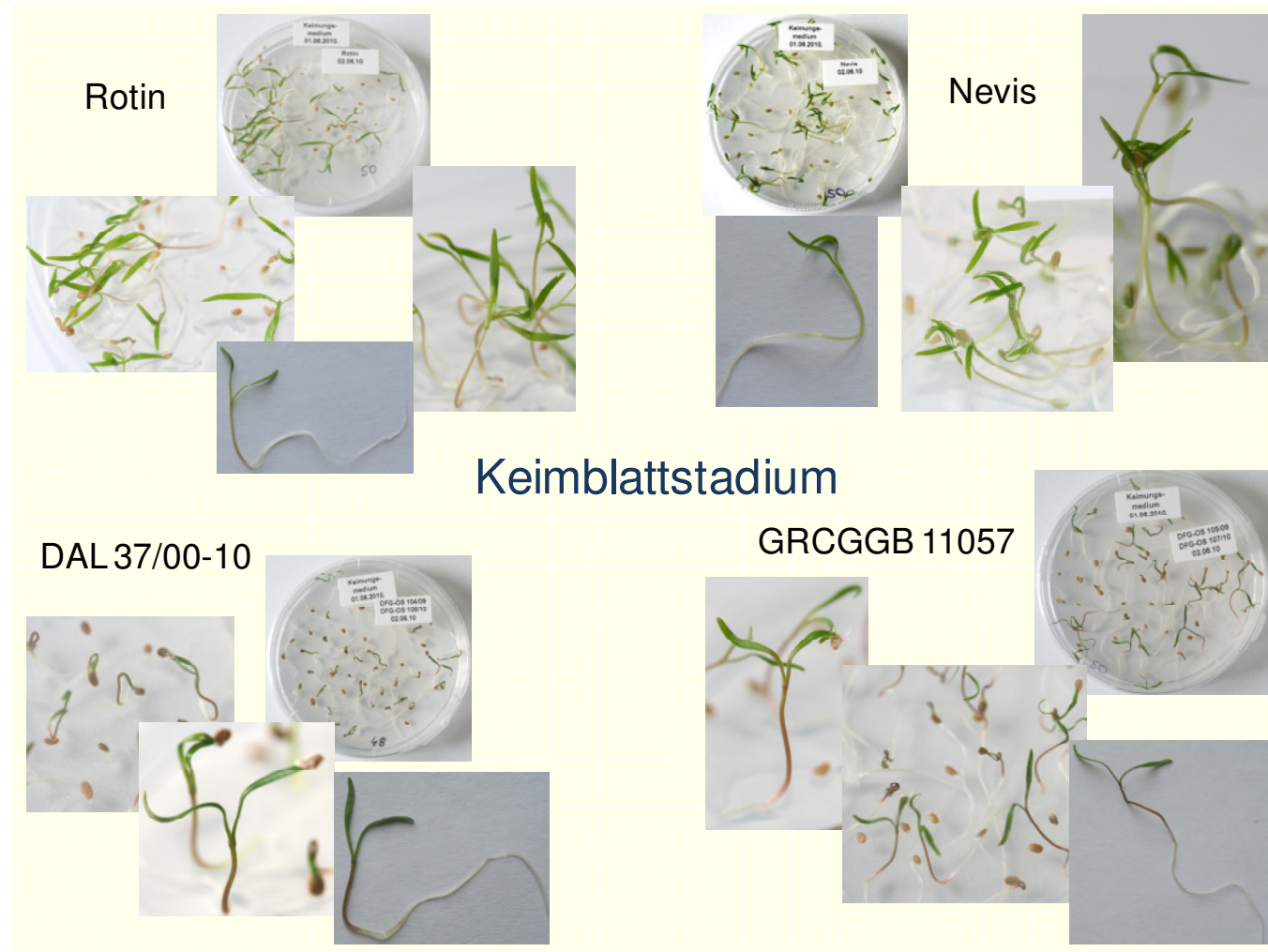


Abbildung A-7-9: Keimblattstadium der Kulturmöhrensorten 'Nevis' und 'Rotin' sowie der Wildmöhrengenotypen GRCGGB 11057 und DAL 37/00-10

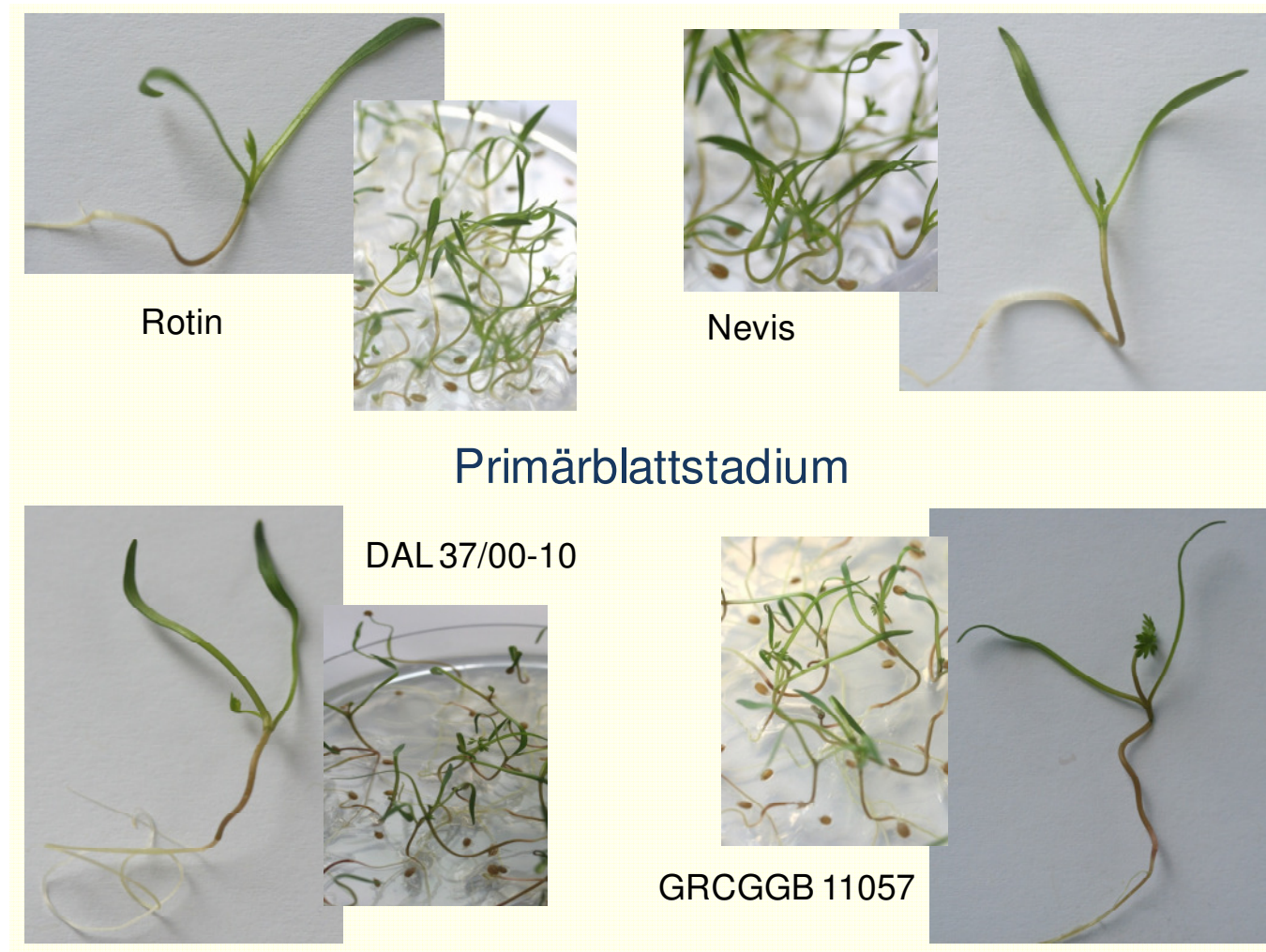


Abbildung A-7-10: Primärblattstadium der Kulturmöhrensorten 'Nevis' und 'Rotin' sowie der Wildmöhrengenotypen GRCGGB 11057 und DAL 37/00-10

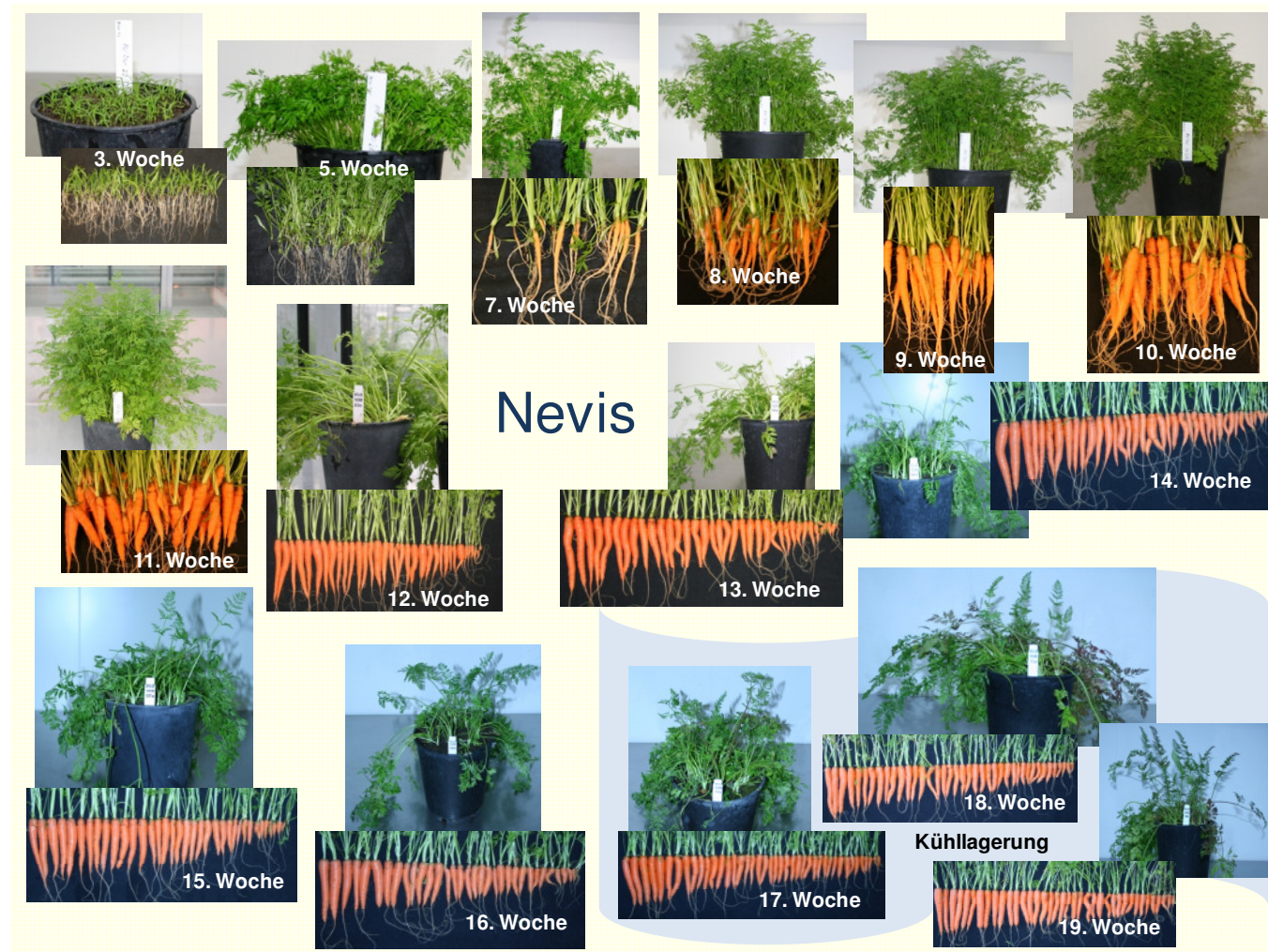


Abbildung A-7-11: Ontogenesestadien der Kulturmöhrensorte 'Nevis' über eine Kultivierungsdauer von neunzehn Wochen inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung





Abbildung A-7-12: Ontogenesestadien der Kulturmöhrensorte 'Rotin' über eine Kultivierungsdauer von neunzehn Wochen inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Akklimatisierung



Abbildung A-7-13: Ontogenesestadien des Wildmöhrengenotyps DAL 377/00-10 über eine Kultivierungsdauer von zwölf Wochen





Abbildung A-7-14: Ontogenesestadien des Wildmöhrengenotyps GRCGGB 11057 über eine Kultivierungsdauer von zwölf Wochen

Tabelle A-7-4: Korrelationsmatrix der sechs Zielsubstanzen in Karottenwurzeln (W) und Karottenblättern (B) über 15 Ontogeneseestadien

OS I über 15 Erntestadien	Fructose-W	Glucose-W	Saccharose-W	Lutein-W	$\alpha$ -Carotin-W	$\beta$ -Carotin-W	FaDOH-W	FaDOH-3-Acetat-W	FaOH-W
Fructose-B	-0,16	-0,30	-0,07	-0,28	0,01	0,14	0,26	0,29	0,17
Glucose-B	-0,23	0,31	-0,44	0,17	-0,36	-0,41	0,18	0,15	0,15
Saccharose-B	0,19	-0,22	0,51	-0,34	0,55	0,60	-0,27	-0,18	-0,25
Lutein-B	0,04	0,18	0,09	-0,51	0,09	0,11	0,15	0,02	0,04
$\alpha$ -Carotin-B	0,14	0,27	-0,05	0,29	-0,51	-0,47	0,05	0,14	0,07
$\beta$ -Carotin-B	0,52	0,48	0,50	-0,20	-0,23	-0,07	0,11	0,08	0,11
FaDOH-B	0,22	0,35	0,16	-0,43	-0,37	-0,24	0,51	0,32	0,41
FaDOH-3-Acetat-B	0,43	0,52	0,31	-0,43	-0,45	-0,30	0,47	0,39	0,38
FaOH-B	0,22	0,44	0,09	-0,30	-0,43	-0,39	0,45	0,19	0,42

### Vergleich der Konzentrationen der nicht-flüchtigen Inhaltsstoffe in Blättern und Wurzeln der Sorten 'Nevis' und 'Rotin'

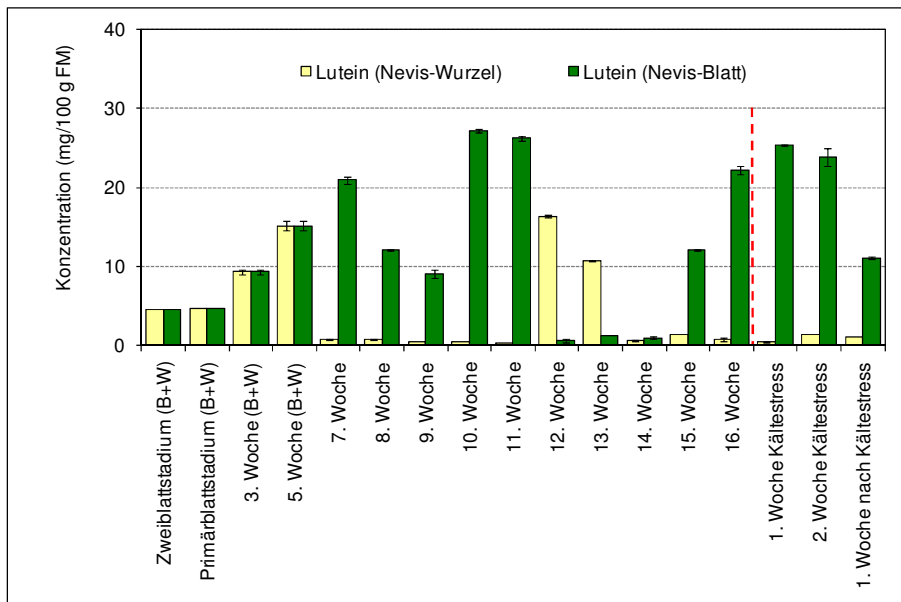


Abbildung A-7-15: Lutein -Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierungsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

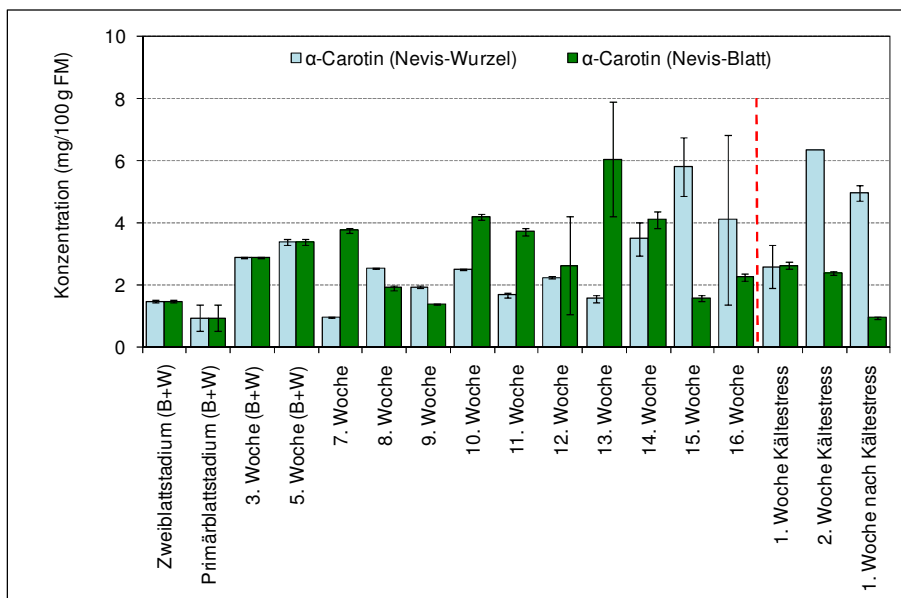


Abbildung A-7-16: α-Carotin-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierungsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress



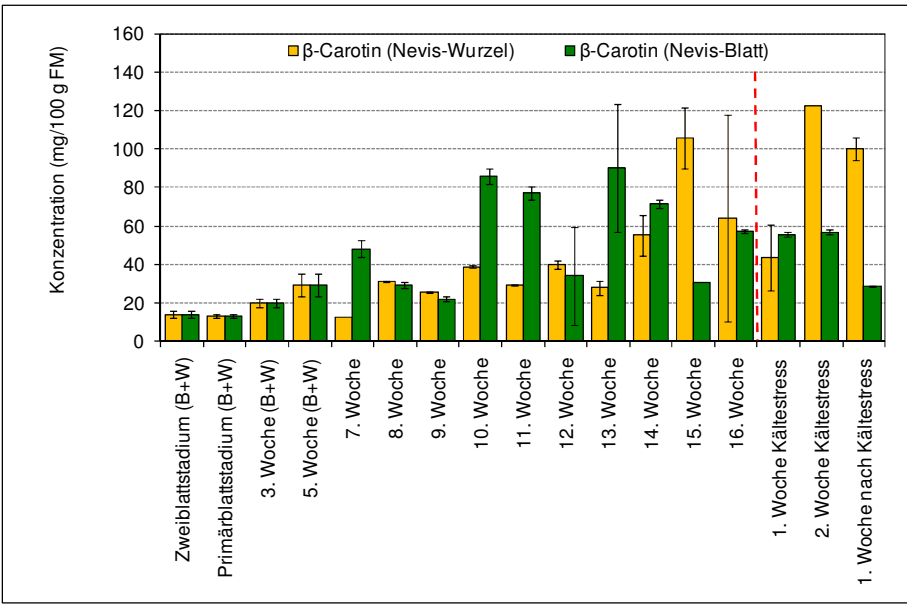


Abbildung A-7-17:  $\beta$ -Carotin-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierungsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

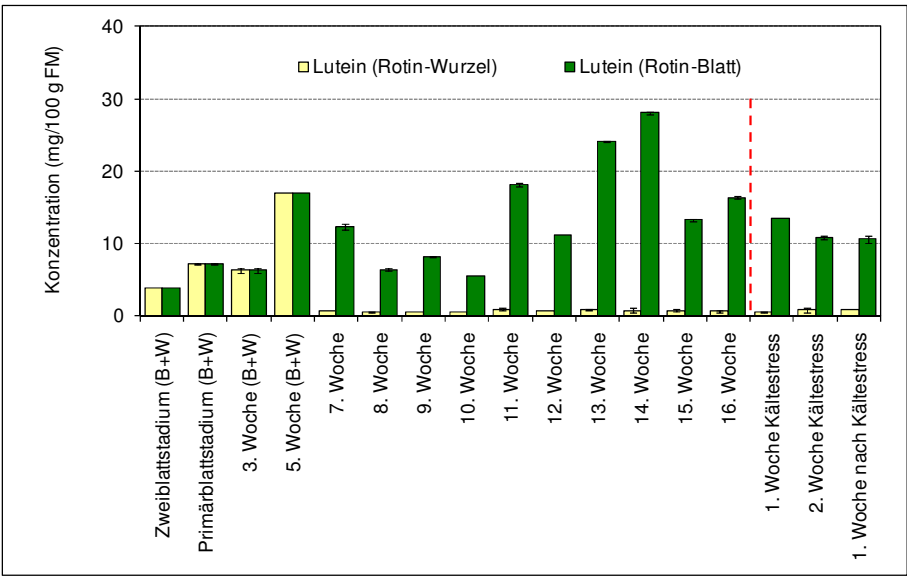


Abbildung A-7-18: Lutein-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierungsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

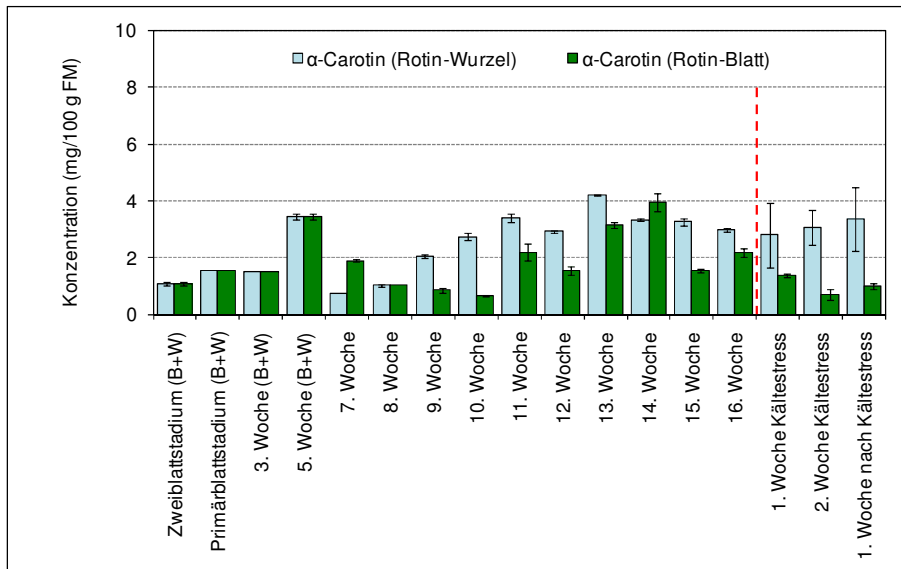


Abbildung A-7-19:  $\alpha$ -Carotin-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierungsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

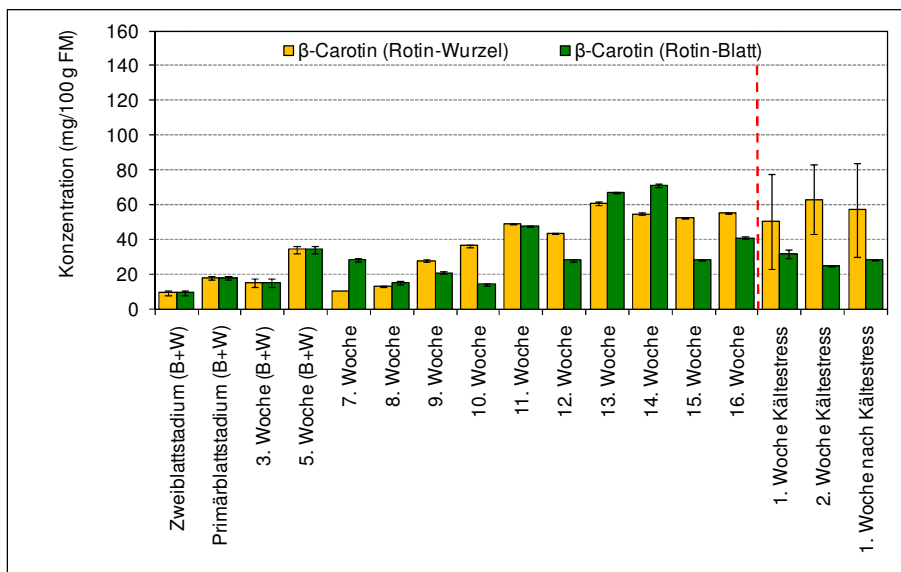


Abbildung A-7-20:  $\beta$ -Carotin-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierungsdauer inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

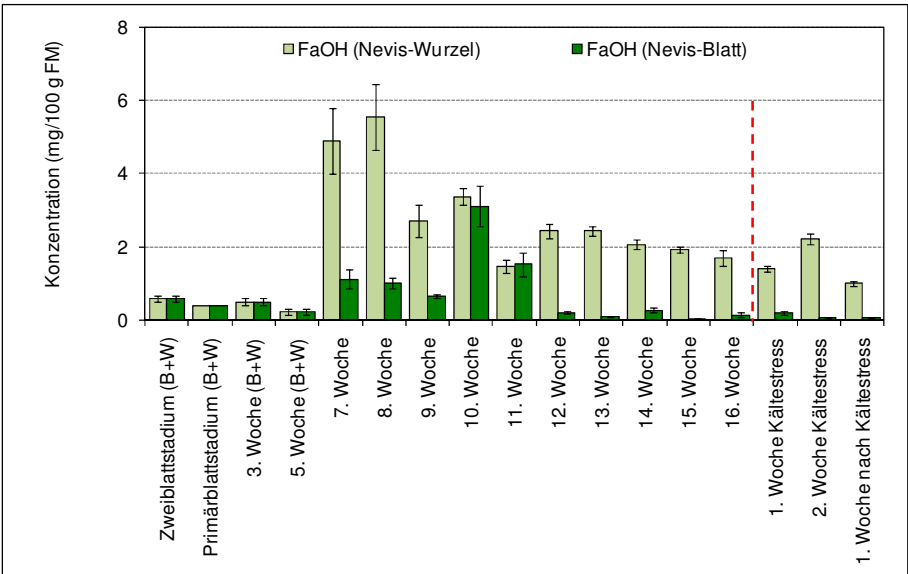


Abbildung A-7-21: FaOH-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

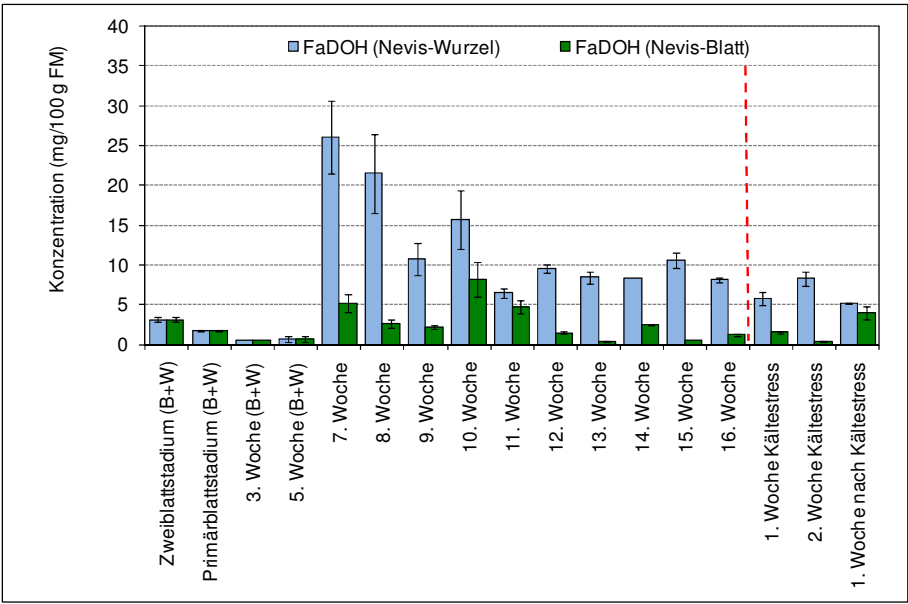


Abbildung A-7-22: FaDOH-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

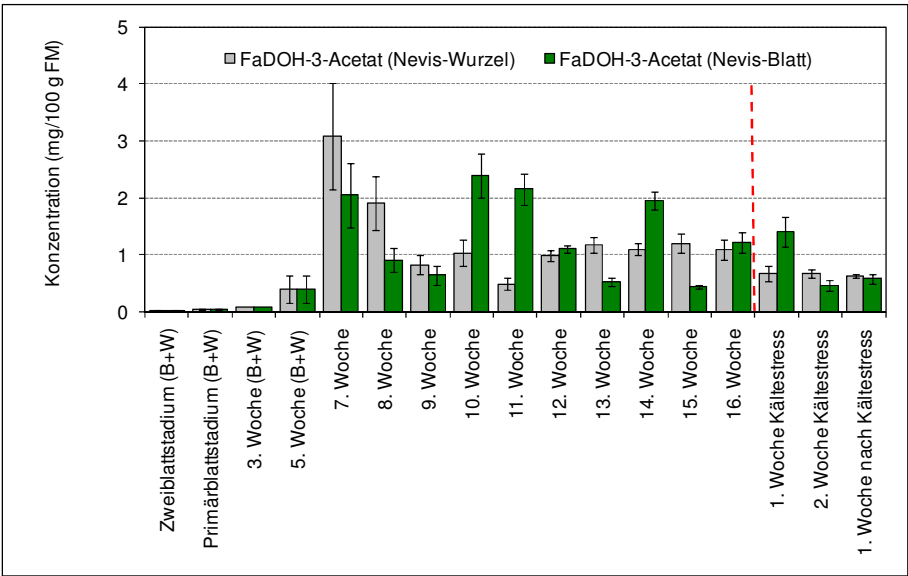


Abbildung A-7-23: FaDOH-3-Acetat-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

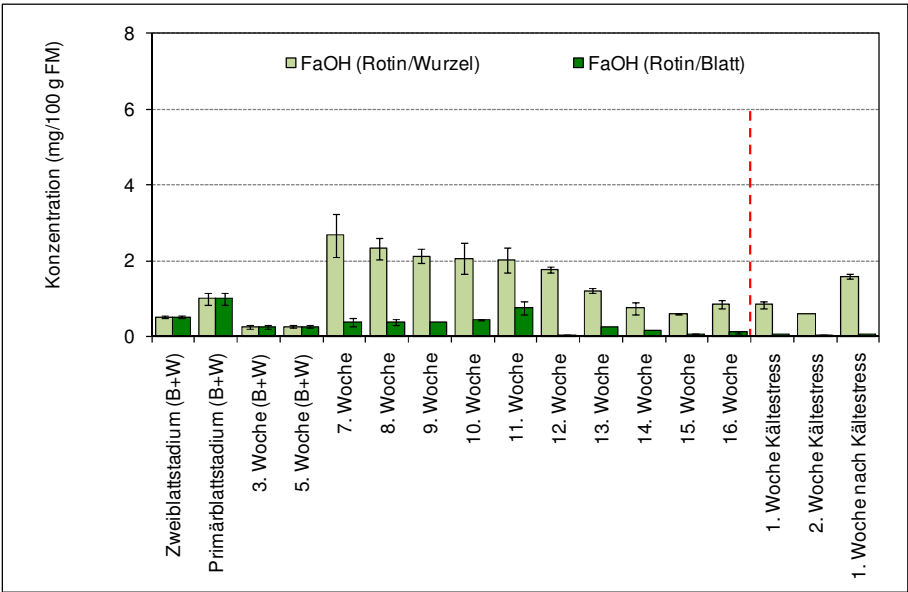


Abbildung A-7-24: FaOH-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

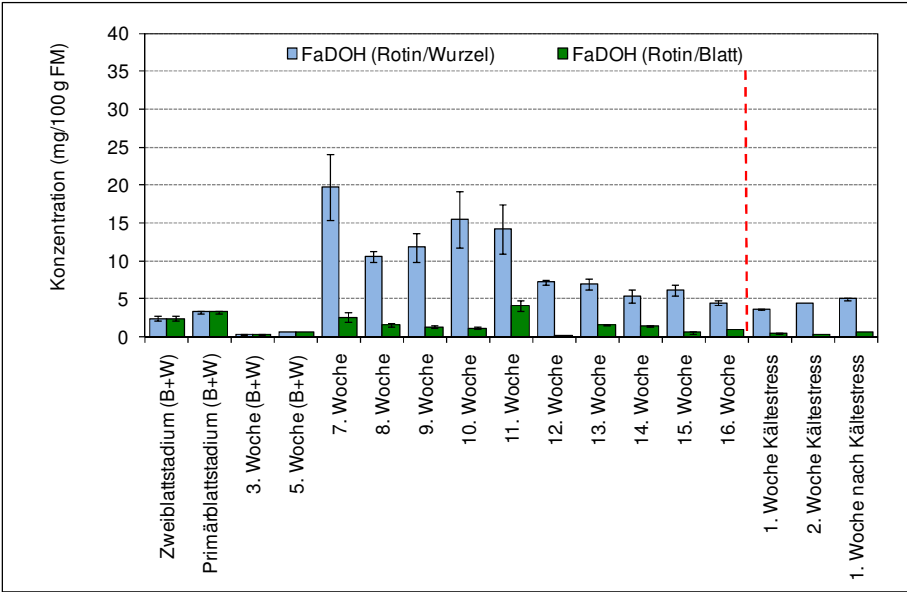


Abbildung A-7-25: FaDOH-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

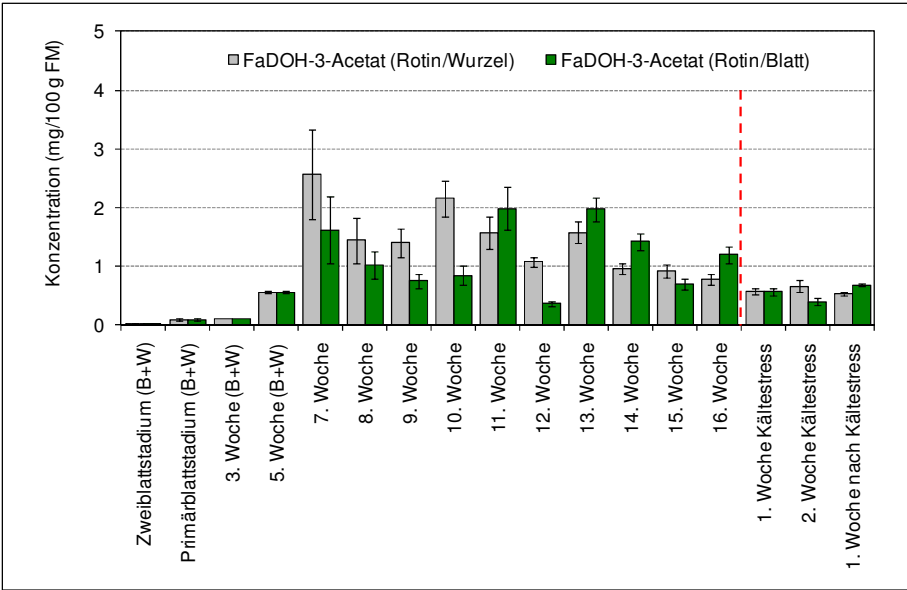


Abbildung A-7-26: FaDOH-3-Acetat-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

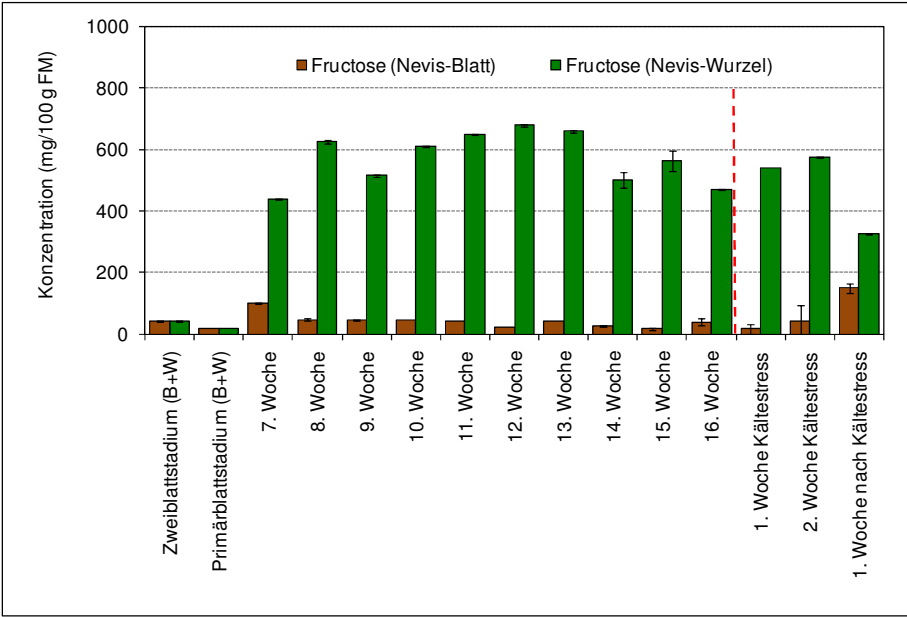


Abbildung A-7-27: Fructose-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

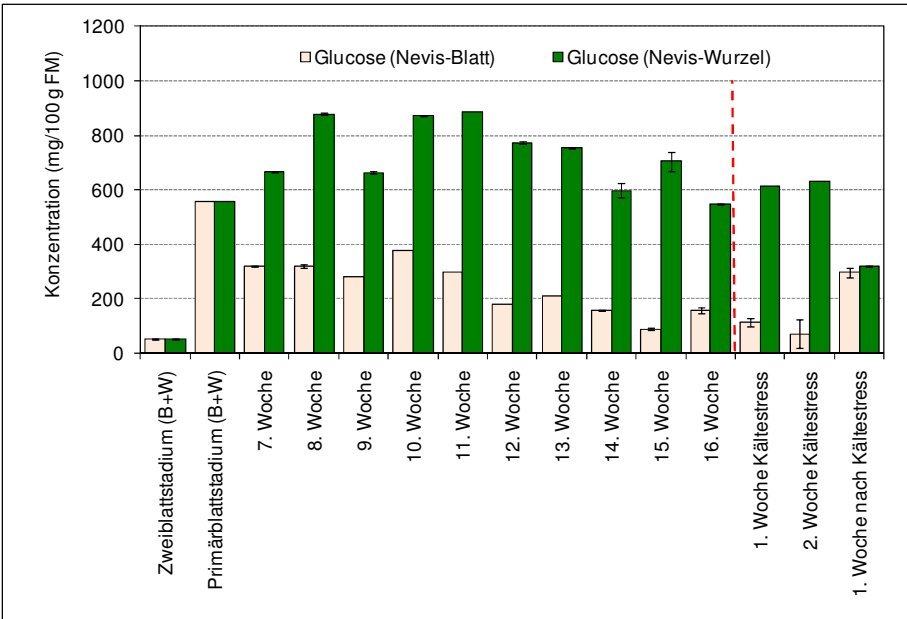


Abbildung A-7-28: Glucose-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

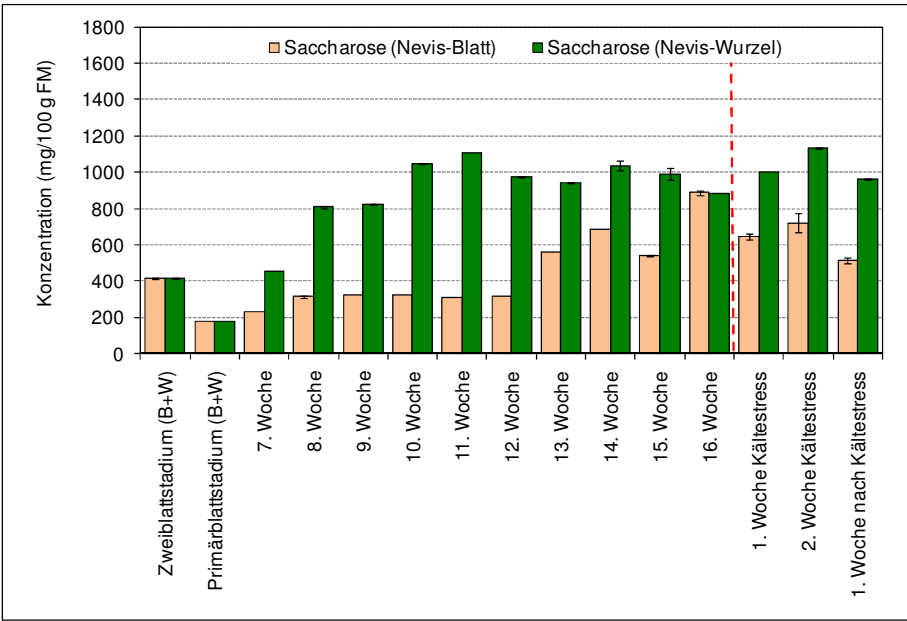


Abbildung A-7-29: Saccharose-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Nevis' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

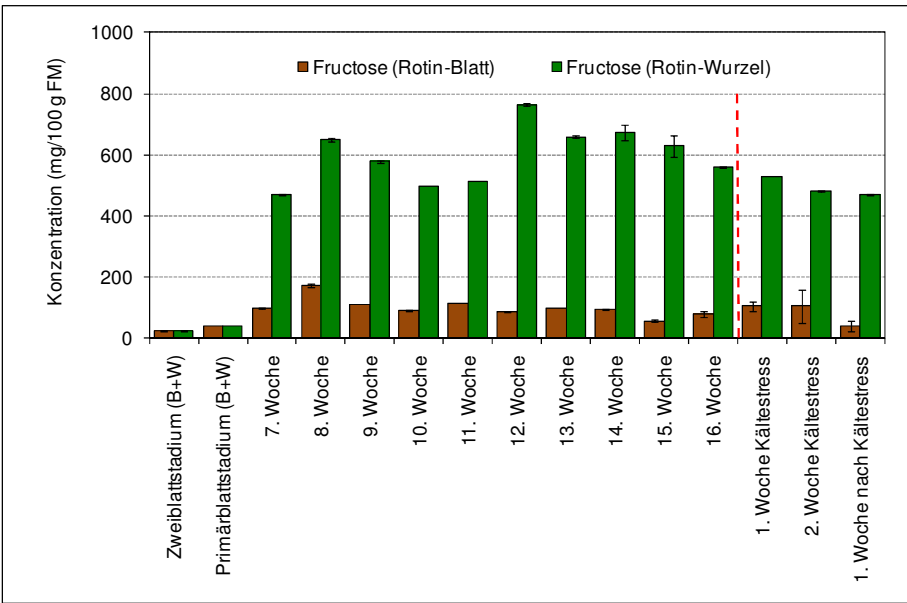


Abbildung A-7-30: Fructose-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

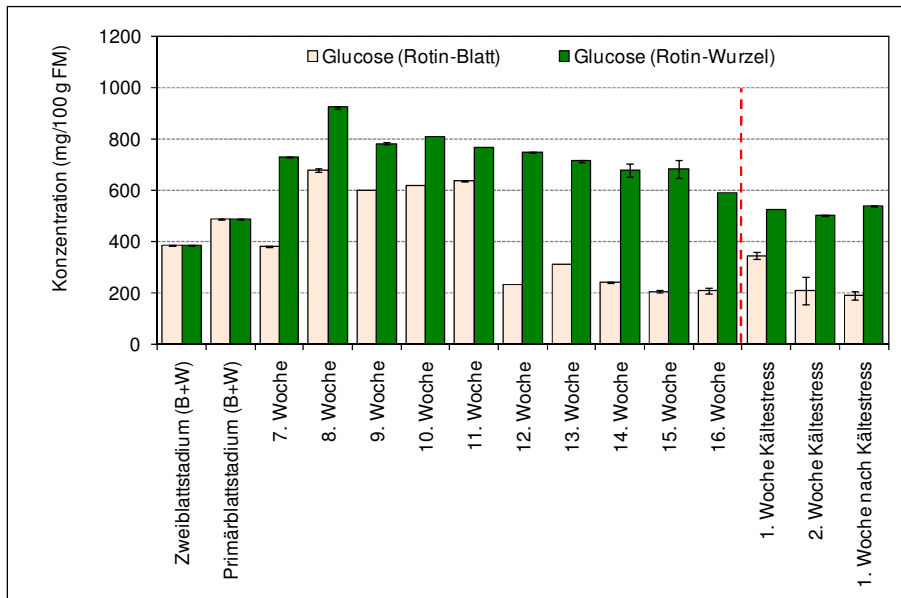


Abbildung A-7-31: Glucose-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress

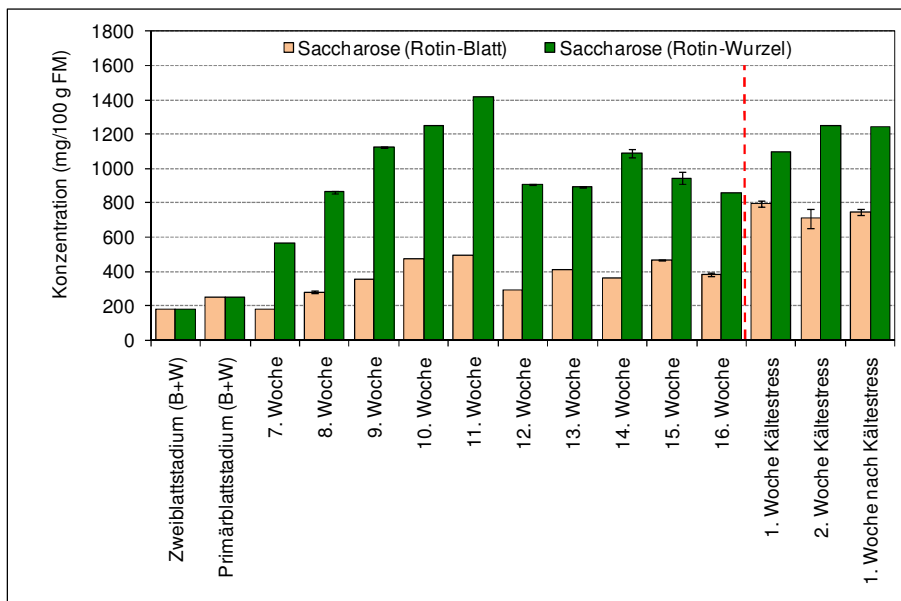


Abbildung A-7-32: Saccharose-Konzentrationen in mg/100 g FM in Wurzel- und Blattmischproben der Sorte 'Rotin' zu 17 Erntezeitpunkten in 19 Wochen Kultivierung inklusive 2 Wochen Kältestress und 1 Woche Regenerationszeit nach dem Kältestress





Abbildung A-7-33: Foto des Wildmöhrengenotyps 171